

Die Entwicklung superparamagnetischer Kern-Schale-Nanopartikel und deren Einsatz als Trägermaterial in der festphasen- gebundenen Synthese von Peptiden, Peptid- Polymerkonjugaten und Oligonucleotiden

Dissertation

zur Erlangung des akademischen Grades

doctor rerum naturalium

(Dr. rer. nat.)

im Fach Chemie

eingereicht an der

Mathematisch-Naturwissenschaftlichen Fakultät

der Humboldt-Universität zu Berlin

von

Dipl.-Chem. Christian Stutz

Präsident der Humboldt-Universität zu Berlin

Prof. Jan-Hendrik Olbertz

Dekan der Mathematisch-Naturwissenschaftlichen Fakultät

Prof. Dr. Elmar Kulke

Gutachter:

1. Prof. Dr. Hans Börner
2. Prof. Dr. Klaus Rademann

Tag der mündlichen Prüfung: 15.07.2015

Die vorliegende Arbeit wurde im Arbeitskreis von Prof. Dr. Hans G. Börner am Institut für Chemie der Humboldt-Universität zu Berlin in der Zeit von Februar 2010 bis Januar 2013 angefertigt.

Für meine Familie

Inhaltsverzeichnis

1. Motivation und Zielsetzung	1
2. Hintergrund und Stand der Forschung	3
2.1 Festphasengebundene Synthesen	3
2.1.1 Grundlagen	3
2.1.2 Trägermaterialien	3
2.1.3 Ankergruppen	6
2.1.4 Beispiele für festphasengebundene Synthesen	7
a) Festphasenpeptidsynthese	7
b) Festphasensynthese von Peptid-Polymerkonjugaten	8
c) Festphasensynthese von Oligonucleotiden	9
2.2 Kern-Schale-Nanopartikel und deren Applikation	11
2.2.1 Grundlagen	11
2.2.2 Magnetische Nanopartikel	13
a) Magnetismus	13
b) Anwendungen magnetischer Nanomaterialien	16
c) Die Eisenoxide	18
2.2.3 Kern-Schale-Partikel	19
2.2.4 Synthesemöglichkeiten für Nanomaterialien	21
2.3 Mikrowellenunterstützte Synthesen	29
2.3.1 Grundlagen	29
2.3.2 Synthese von Nanopartikeln mit Mikrowellenstrahlung	31
3. Die Entwicklung neuer Trägermaterialien	34
3.1 Konzept	34
3.2 Trägermaterial: $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{SiO}_2@\text{NH}_2$ -Nanopartikel	36
3.2.1 Die Synthese von Fe_3O_4 -Nanopartikeln	36
a) Synthese im Autoklaven	36
b) Mikrowellenunterstützte Synthese	37
3.2.2 Die Synthese von $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{SiO}_2$ -Nanopartikeln	42
Klassische Stöber-Synthese	42
Mikrowellenunterstützte Synthese	46
3.2.3 Die Synthese von $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{SiO}_2@\text{NH}_2$ -Nanopartikeln	51

3.3	Trägermaterial: MagSilica@NH ₂ -Nanopartikel	56
3.3.1	Funktionalisierung von MagSilica-Nanopartikeln	56
3.4	Stabilitätsuntersuchungen und Eigenschaften	59
3.5	Organische Funktionalisierung	62
3.5.1	Spacermoleküle und Rink-Amid-Linker	62
3.6	Strategien zur Erhöhung der Konzentration der Amino-Funktionalitäten	65
3.6.1	Konzentrationserhöhung durch mehrfache Lysin-Kupplung	65
3.6.2	Konzentrationserhöhung durch Polyethylenimin	67
4.	Festphasenpeptidsynthese an superpara-magnetischen Fe₃O₄@SiO₂@NH₂-Nanopartikeln	71
4.1	Allgemeine Synthesestrategie	71
4.2	Festphasenpeptidsynthese an Fe ₃ O ₄ @SiO ₂ @NH ₂ -Nanopartikeln	73
5.	Synthese von Peptid-Polymer-Konjugaten an Fe₃O₄@SiO₂@NH₂-Nanopartikeln	77
5.1	Synthesestrategie	77
5.2	Peptidsynthese	78
5.3	PEGylierung	79
6.	Festphasenpeptidsynthese an MagSilica@NH₂-Nanopartikeln	82
6.1	Peptidsynthese an MagSilica@NH ₂ -Nanopartikeln	82
6.2	Peptidsynthese an MagSilica@NH-IPDI-PEI ₂₅₀₀₀ -Nanopartikeln	83
7.	Synthese eines Oligonucleotids an MagSilica@NH₂-Nanopartikeln	86
7.1	Synthesestrategie	86
7.2	Oligonucleotidsynthese	87
8.	Zusammenfassung und Ausblick	90
9.	Experimenteller Teil	92
9.1	Materialien	92
9.1.1	Geräte	92
9.1.2	Untersuchungsmethoden	92
9.1.3	Chemikalien	96
9.1.4	Magnetische Sedimentation	97

9.2	Synthese von Fe ₃ O ₄ -Nanopartikeln	98
9.2.1	Synthese von Fe ₃ O ₄ -Nanopartikeln im Autoklaven	98
9.2.2	Synthese von Fe ₃ O ₄ -Nanopartikeln in einem Mikrowellenreaktor	98
9.3	Synthese von Fe ₃ O ₄ @SiO ₂ -Nanopartikeln	100
9.3.1	Stabilisierung von Fe ₃ O ₄ -Nanopartikeln mit Polyvinylpyrrolidon (PVP)	100
9.3.2	Synthese von ^{PVP} Fe ₃ O ₄ @SiO ₂ -Nanopartikeln	100
9.3.3	Synthese von Fe ₃ O ₄ @SiO ₂ -Nanopartikeln	100
9.4	Synthese von Fe ₃ O ₄ @SiO ₂ @NH ₂ -Nanopartikeln	102
9.4.1	Synthese von Fe ₃ O ₄ @SiO ₂ @NH ₂ -Nanopartikeln	102
9.5	Synthese von MagSilica@NH ₂ -Nanopartikeln	106
9.5.1	Synthese von MagSilica@NH ₂ -Nanopartikeln	106
9.6	Stabilitätsuntersuchungen	107
9.6.1	TFA/DCM	107
9.6.2	Piperidin/NMP	107
9.6.3	Fmoc-4-ABZ-OH	107
9.7	Organische Funktionalisierung von Fe ₃ O ₄ @SiO ₂ @NH ₂ -Nanopartikeln	108
9.7.1	Synthese von Fe ₃ O ₄ @SiO ₂ @NH-(βAla) ₂ -Rink-Linker-Partikeln	108
9.7.2	Synthese von Fe ₃ O ₄ @SiO ₂ @NH-(βAla) ₂ -(PEG)-Rink-Linker-Partikeln	109
9.8	Strategien zur Erhöhung der Konzentration der Amino-Funktionalitäten	110
9.8.1	Synthese von MagSilica@NH-(Lys) ₃ -Nanopartikeln	110
9.8.2	Synthese von MagSilica@NH-IPDI-PEI _x -Nanopartikeln	111
9.9	Allgemeine Peptidsynthese	115
9.9.1	Automatisierte Festphasenpeptidsynthese nach der Fmoc-Strategie an Rink-Amid-Polystyrol-Harz	115
9.9.2	Allgemeiner Syntheseablauf an Kern-Schale-Nanopartikeln	116
9.10	Peptidsynthese an Fe ₃ O ₄ @SiO ₂ @NH ₂ -Nanopartikeln	118
9.10.1	Synthese von H ₂ N-Phe-Lys-Leu-Gly-CONH ₂	118
9.10.2	Synthese von H ₂ N-Gln-Thr-Thr-Thr-Trp-Gln-Asp-Pro-Arg-Lys-Gly-CONH ₂	120
9.11	Peptid-Polymer-Konjugat-Synthese an Standard-Rink-Amid-PS-Harz	122
9.11.1	Synthese von H ₂ N-Tyr-Lys-Tyr-Lys-Gly-CONH ₂	122
9.11.2	Synthese von MeO-PEG ₂₀₀₀ -Tyr-Lys-Tyr-Lys-Gly-CONH ₂	122
9.11.3	Synthese von MeO-PEG ₅₀₀₀ -Tyr-Lys-Tyr-Lys-Gly-CONH ₂	124
9.12	Peptid-Polymer-Konjugat-Synthese an Fe ₃ O ₄ @SiO ₂ @NH ₂ -Nanopartikeln	127
9.12.1	Synthese von H ₂ N-Tyr-Lys-Tyr-Lys-Gly-CONH ₂	127
9.12.2	Synthese von MeO-PEG ₂₀₀₀ -Tyr-Lys-Tyr-Lys-Gly-CONH ₂	127

9.12.3 Synthese von MeO-PEG ₅₀₀₀ -Tyr-Lys-Tyr-Lys-Gly-CONH ₂	130
9.13 Peptidsynthese an MagSilica@NH ₂ -Nanopartikeln	132
9.13.1 Synthese von H ₂ N-Phe-Lys-Leu-Gly-CONH ₂ an MagSilica@NH-Rink-Linker-Nanopartikeln	132
9.13.2 Synthese von H ₂ N-Phe-Lys-Leu-Gly-CONH ₂ an MagSilica@NH-IPDI-PEI ₂₅₀₀₀ -Rink-Linker-Nanopartikeln.	134
9.14 Oligonucleotidsynthese an MagSilica@NH ₂ -Nanopartikeln	137
9.14.1 Synthese von A-A-A-O-(CH ₂) ₂ -O-(CH ₂) ₂ -OH	137
10. Literaturverzeichnis	139
11. Anhang	149
11.1 Abkürzungsverzeichnis	149
Danksagung	154

1. Motivation und Zielsetzung

Die im Jahre 1963 von Robert Bruce Merrifield vorgestellte festphasengebundene Peptidsynthese (SPPS)^[1] beeinflusste in hohem Maße verschiedene Bereiche der Naturwissenschaften. Neben enormen Fortschritten in der Biochemie, Pharmakologie und Biophysik gab es bedeutende Entwicklungen in der Chemie, speziell in der kombinatorischen Chemie. Mittlerweile wird die SPPS sogar von Materialwissenschaftlern eingesetzt, um Zugang zu bioaktiven Polymeren, multifunktionalen Materialien, Polymer-Peptid-Konjugaten, Proteinen, Pseudopeptiden oder monodispersen Polyamiden zu erhalten.^[2-7] Das Prinzip der SPPS basiert allgemein auf dem chemoselektiven, linearen Aufbau von Peptidsequenzen aus α -Aminosäuren an einem unlöslichen, polymeren Trägermaterial.^[1]

Seit der Einführung der SPPS wurden verschiedene Trägermaterialien entwickelt, zum Beispiel zahlreiche Varianten an quervernetzten Polystyrol-Harzen oder auch oberflächenmodifizierte Glaskügelchen. Dabei hat sich aber das Prinzip der Trägermaterialien seit der Einführung der SPPS nicht grundlegend geändert. Geringfügig quervernetzte Polystyrol-Harze mit einem Anteil von 1-5 % Divinylbenzol (DVB) sind immer noch die meist verwendeten Trägermaterialien in der standardisierten Peptidsynthese, wobei mechanische Stabilität, Permeabilität, Quell- und Diffusionsverhalten der Harze weitestgehend optimiert wurden. Der Vorteil von Polystyrol-basierten Harzen ist ein hoher Beladungsgrad an funktionellen Gruppen, allerdings ist es nötig, das Material für bis zu eine Stunde vor Synthesebeginn im jeweiligen Lösungsmittel Quellen zu lassen. Dabei steigt das Volumen der Teilchen um den drei- bis zehnfachen Wert. Außerdem ist die Zugänglichkeit der funktionellen Gruppen limitiert, da Reaktanden erst durch die Netzwerkstruktur des Polymers zum jeweiligen Reaktionsort diffundieren müssen. Im Gegensatz dazu haben solide Partikel im gleichen Größenbereich eine bessere Zugänglichkeit der funktionellen Gruppen, da diese nahezu direkt an der Oberfläche präsentiert werden. Der große Nachteil ist hier der geringe Beladungsgrad, welcher durch die geringere Oberfläche im Vergleich zu quervernetzten Harzen bedingt wird.

Dieses Problem kann umgangen werden, indem man das Prinzip der soliden Kügelchen auf ein kolloidales Trägermaterial überträgt. Dessen Oberfläche bei einem durchschnittlichen Partikeldurchmesser von beispielsweise 70-100 nm wäre bis zu $1.1 \cdot 10^5$ mal größer als bei soliden Partikeln mit einem Durchmesser von 90-400 μm . Dies würde zwangsläufig auch zu einem wesentlich höheren Beladungswert des Trägermaterials führen. Dazu können die Partikel direkt ohne zeitaufwändigen Quellvorgang in der Synthese eingesetzt werden. Bis dato ist die Konzentration der Forschung auf ein kolloidales Trägermaterial allerdings gering

geblieben, da neben der definierten Herstellung auch Probleme mit der Abtrennung des Trägermaterials während und nach der Synthese auftreten. Eine mögliche Variante bieten funktionalisierte Kern-Schale-Nanopartikel, die mit einem schaltbaren magnetischen Kern einen interessanten Ansatz liefern. Allerdings wurde eine Anwendung in der Peptidsynthese solcher Partikel bisher nur als Idee erwähnt, aber nicht weiterentwickelt und umgesetzt.^[8-13]

Ziel dieser Arbeit war die Entwicklung superparamagnetischer Kern-Schale-Nanopartikel und deren Einsatz als quasi lösliche Trägermaterialien bei der festphasengebundenen Synthese von Peptiden, Polymer-Peptid-Konjugaten und Oligonucleotiden. Zunächst sollte ein funktionalisiertes Kern-Schale-Nanopartikel-System als neues Trägermaterial für festphasengebundene Synthesen entwickelt werden. Anschließend sollte dieses System auf kommerziell erhältliches, superparamagnetisches Komposit (MagSilica®) übertragen werden. Beide Systeme sollten dann in verschiedenen festphasengebundenen Synthesen getestet werden. Im ersten Teil der vorliegenden Arbeit werden der Hintergrund und der aktuelle Stand der Forschung in dieser Thematik dargelegt und zusammengefasst. Hierbei liegt der Fokus auf festphasengebundene Synthese, Kern-Schale-Nanopartikel und mikrowellenunterstützte Synthesen. Im zweiten Teil wird in einem Abschnitt die Entwicklung neuer Trägermaterialien, deren Funktionalisierung und Charakterisierung und deren Einsatz in verschiedenen festphasengebundenen Synthesen aufgezeigt.

2. Hintergrund und Stand der Forschung

2.1 Festphasengebundene Synthesen

2.1.1 Grundlagen

In der organischen Chemie dominieren Synthesen in homogener Phase. Bei mehrstufigen Syntheserouten ist dabei eine gezielte Strategie der Einsatz von Schutzgruppen und Kupplungsmethoden sowie die Überwindung von Löslichkeitsproblemen von Nöten, um den Arbeitsaufwand zu minimieren und Ausbeuten in akzeptablen Bereichen zu erzielen. Im Jahr 1963 gelang Bruce Merrifield die Synthese eines Tetrapeptids an einem polymeren, festen Träger.^[1] Dadurch kam es zu einem starken Aufschwung in der Peptidsynthese, der sich in der Folgezeit auch auf andere organische Synthesen ausweitete. Der entscheidende Vorteil einer festphasengebundenen Synthese besteht darin, dass die umständliche und zeitraubende Isolierung und Reinigung der Zwischenprodukte entfällt. Das Reaktionsprodukt bleibt stets am polymeren Träger gebunden, während überschüssige Reagenzien und Nebenprodukte durch einfache Filtrationsprozesse entfernt werden.

Während die erste Peptidsequenz Merrifields lediglich vier Aminosäuren umfasste,^[1] ist heutzutage eine komplett automatisierte Festphasensynthese von Polypeptiden etabliert.^[14-17] Darüber hinaus hat das Prinzip der Synthese am polymeren Träger auch den synthetischen Fortschritt bei anderen Biomolekülen beeinflusst,^[18] beispielsweise die Oligo- und Polynucleotidsynthese,^[19-21] wie auch die Synthese von Oligosacchariden.^[22-25] Mittlerweile ist auch der Einsatz von Syntheserobotern für die simultane, multiple Synthese von vielen chemischen Verbindungen Standard bei der Suche nach neuen Leitstrukturen und deren Optimierung zu Pharmaka.^[15, 26-27] Dadurch können systematisch ganze Peptidbibliotheken mit dieser Synthesevariante hergestellt werden.^[28-32] Die Synthesen sind dabei einfacher und schneller durchführbar im Vergleich zur Synthese in Lösung. Aufgrund dessen ist die Herstellung von Biopolymeren und Biopolymermimetica stark vereinfacht worden,^[33] allein durch den Wegfall von zeit- und kostenintensiven Trennvorgängen. Voraussetzung dafür sind möglichst quantitative Ausbeuten bei den Einzelschritten. Mittlerweile sind auch komplizierte Peptidmimetica und -wirkstoffe über Festphasensynthese zugänglich. So konnten auch einige Lipopeptide, beispielsweise Tripalmitoyl-(S)-glycerylcysteinylopeptide,^[34] Glycopeptide^[35] und Glycosporin^[36], hergestellt werden.

2.1.2 Trägermaterialien

Die richtige Wahl des Trägermaterials sowie der daran gekuppelten Ankergruppen, auch Linker genannt, ist für den Erfolg einer organischen Synthese an fester Phase entscheidend.

Das Trägermaterial ist je nach Syntheseroute oft besonderen Bedingungen ausgesetzt, beispielsweise hohen Temperaturen, reaktiven Edukten, starken Säuren und Basen und auch Synthesen unter Schutzgas. Es sollte deshalb vor allem chemisch inert in den verwendeten Lösungsmitteln und leicht filtrierbar sein. Speziell für organische Synthesen wurden kaum spezifische Trägermaterialien entwickelt, allerdings können die aus der Peptidchemie bekannten festen Phasen mit jeweiligen Linkern auch für organische Reaktionen verwendet werden. Tabelle 2.1 zeigt eine Auswahl an Trägermaterialien und deren Eigenschaften.^[33]

Tabelle 2.1. Ausgewählte Trägermaterialien für organische Synthesen.^[33]

<i>Trägermaterial</i>	<i>Eigenschaften</i>	<i>Ref.</i>
PS/DVB-Copolymer (1-5 % quervernetzt)	gute Quelleigenschaften, quillt bis zum Fünffachen des Trockenvolumens, bei geringer Vernetzung (1 %) begrenzt hitzestabil (105-130 °C, abhängig vom Lösungsmittel)	[37-38]
Hexamethyldiaminpolyacryl-Harze und verwandte Polymere	polare Harze, gute Quelleigenschaften in H ₂ O und DMF, quillt nicht in DCM	[39-41]
Poly[N-(2-(4-hydroxy-phenyl)ethyl)]acrylamid (Core Q)	SPPS mit hoher Beladung	[42-43]
Poly[N-acryloylpyrrolidin]-Harze, PAP- und SPARE-Polyamid-Harze	SPPS mit hoher Beladung, quillt in H ₂ O, DMF, und DCM	[44-46]
Polyethylen, mit Acrylsäure funktionalisiert	Synthese an Stäbchen (Pins)	[47]
Kieselgur/Polyamid (Pepsyn K)	druckstabil, Durchfluss-SPPS, geringes Quellvermögen wegen anorganischem Trägermaterial; hoher Abrieb des organischen Polymerisats beim Schütteln	[48]
polyHipe, PS/Polydimethylacrylamid-Copolymer	Durchfluss-SPPS, Beladungskapazität bis 5 mmol/g, hohe Quervernetzung des PS-Gerüsts	[49]
Controlled Pore Glass (CPG)	druck- und temperaturstabil, stabil gegenüber aggressiven Reagenzien, geringe Beladung	[50-51]
PS-MakroBeads	Durchmesser ≤1 mm, 50 nmol pro Korn Beladung; unterschiedliche Linker möglich	[52]
TentaGel®, PEG-PS/DVB-Pfropfpolymere	polar, quellen in H ₂ O, MeOH, MeCN, DMF und DCM, druckstabil, geeignet für Bioassays am Harz	[53-55]
Spheri Tide® Harz	quervernetztes Poly-ε-Lysin-Netzwerk, für SPPS in Mikrowellenreaktoren	[56-60]

Als polymerer Träger hat sich trotz einer Vielzahl weiterer vorgeschlagener Varianten ein Copolymerisat aus Polystyrol und 1 % Divinylbenzol (DVB) als besonders günstig erwiesen.^[18] Die durch Suspensionspolymerisation hergestellten Harzkügelchen haben im getrockneten Zustand einen Durchmesser von 20 bis 80 µm. Sie quellen bis zum Fünf- bis Sechsfachen ihres Volumens in den für Peptidsynthesen typischen organischen Lösungsmitteln, zum Beispiel Dichlormethan (DCM) oder *N,N*-Dimethylformamid (DMF). Bei diesen Harz-Varianten handelt es sich nicht um eine statische Trägermatrix, sondern alle Reaktionen vollziehen sich innerhalb eines gut solvatisierten Mikrogels, das bewegliche und für Reaktionen zugängliche Ketten enthält. Autoradiographische Analysen zeigen eine gleichmäßige Verteilung der sich bildenden Peptidketten während der Synthese.^[18] Ein entscheidender Nachteil bei den aufgezeigten Synthese-Harzen ist die eingeschränkte Zugänglichkeit der freien funktionellen Gruppen im System. Die Reaktionspartner müssen durch die Mikrogel-Struktur diffundieren, um zum Syntheseort zu gelangen. Diese Diffusionsabhängigkeit limitiert viele Reaktionen. Um die Zugänglichkeit der inneren Funktionalitäten zu erhöhen, wurden verschiedene Modifikationen an den Syntheseharzen entwickelt.^[61-62] Beispielsweise konnte durch Integration von Polyethylenoxid-Ketten in das Polystyrol-Netzwerk ein verbessertes Quellverhalten in verschiedenen Lösungsmitteln erreicht werden.^[63-64] Dazu wird die Wechselwirkung der Peptide mit dem Polystyrol-Netzwerk minimiert, während die Peptide außerdem besser solubilisiert werden. Diese als TentaGel® bekannten Harze ermöglichen dadurch die Synthese schwieriger Peptidsequenzen.^[65-66] Eine weitere Modifikation, um den Einfluss der Polymermatrix bei der Peptidsynthese zu reduzieren, ist die Verwendung von Polyacrylamid- oder Polyethylenoxid-basierten Matrices als polymeres Trägermaterial.^[67-68] Zudem wurden makroporöse Harze entwickelt, die eine permanente poröse Struktur aufweisen (typischerweise zwischen 50 und 1000 m²/g). Im Gegensatz zu den Mikrogel-Harzen, zeigen diese Materialien kein Quellverhalten aufgrund ihres hohen Quervernetzungsgrades (z.B. 3 bis 10 % DVB). Die permanente innere Oberfläche kann leicht von Lösungsmitteln und Reaktanden erreicht werden, allerdings ist die mechanische Stabilität dieses Materials eingeschränkt und bei durchgeführten Peptidsynthesen wurden vermehrt Abbruchsequenzen gebildet. Um diese Probleme zu beheben, wurden sogenannte Kern-Schale-Strukturen für Harze entwickelt, bei denen der solide Kern beispielsweise aus Silica oder stark vernetztem Polystyrol besteht, während an der Oberfläche weiche, gut quellende Polyamid-Gele gebunden sind, an denen dann die Synthese abläuft (Abbildung 2.1 d)). Ein ähnliches System wurde bei einem von Don Wellings im Jahr 2010 entwickelten Trägermaterial für die Synthese von Peptiden in Mikrowellenreaktoren entwickelt.^[60] SpheriTide®-Harz besteht aus Polymerkügelchen mit quervernetzten Poly-ε-Lysin-Molekülen.^[56-60] Die peptidähnliche Struktur des Netzwerks stellt eine optimale Umgebung für das aufgebaute Peptid dar und bildet während der Synthese ein

quasihomogenes Peptid-Harz-Netzwerk.^[56-59] Dadurch konnten Ausbeuten und Reinheit schwierig zu synthetisierender Peptide deutlich erhöht werden.^[56-59]

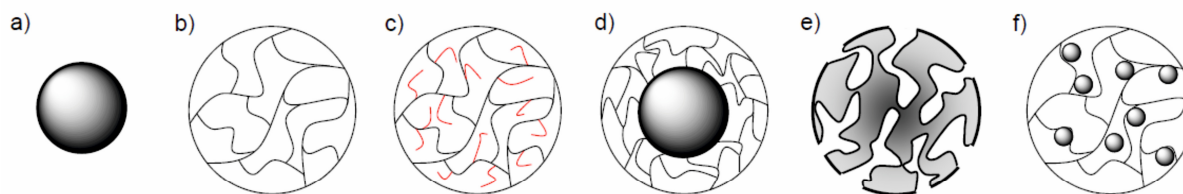


Abbildung 2.1. Beispiele für Trägermaterialien in der SPPS: a) feste, oberflächenmodifizierte Glaskügelchen, b) geringfügig quervernetztes Polystyrol-Harz, c) PEO-optimiertes Polystyrol-Harz, d) gemischter Kern-Schale-Träger, e) makroporöses Harz mit permanenter Porosität, f) quervernetztes Polystyrol-Harz mit eingeschlossenem Magnetit.

Selbst magnetische Polymerträger in der Größenordnung von mehreren Mikrometern haben bereits Anwendung in verschiedenen bio-relevanten Anwendungen gefunden.^[69-70] Allerdings ist die Verwendung derselben in der Festphasensynthese bisher nicht weit verbreitet. Unter anderem wurde Magnetit direkt in Polystyrol-Harze, in TentaGel- oder in CLEAR-Kügelchen eingebaut (Abbildung 2.1 f)). Allerdings sind quervernetzte Polystyrol-Harze mit einem Anteil von 1-5% Divinylbenzol (DVB) immer noch die meist verwendeten Trägermaterialien in der standardisierten Peptidsynthese. In dieser Arbeit wird ein neues Trägermaterial präsentiert, dass die Kern-Schale-Struktur als Grundprinzip verwendet, die Teilchengröße dieses Materials dabei aber im Nanometerbereich liegt.

2.1.3 Ankergruppen

Die Wahl der Ankergruppe ist eine der entscheidenden Faktoren für das Gelingen einer Festphasensynthese. Die Anker- wie auch die erforderlichen Schutzgruppen müssen stabil gegenüber allen während der Reaktionen eingesetzten Chemikalien sein. Zusätzlich muss der Anker aber auch vom Syntheseprodukt abgespalten werden können. Abbildung 2.2 zeigt eine Auswahl basenstabiler Ankergruppen, die häufig in der Festphasenpeptidsynthese eingesetzt werden.

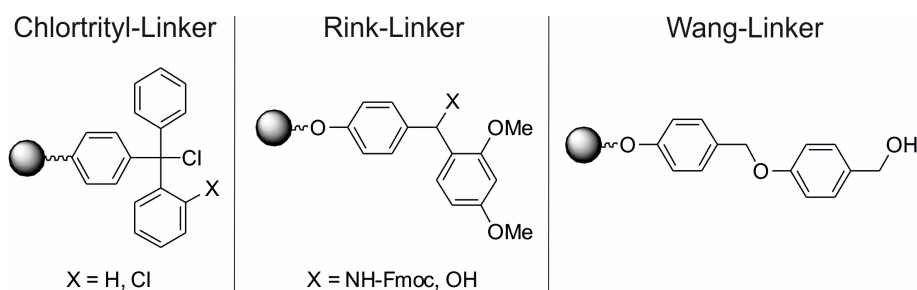


Abbildung 2.2. Basenstabile Ankergruppen (Linker) zwischen Substrat und fester Phase, die am häufigsten in der Festphasenpeptidsynthese eingesetzt werden.^[33]

Die aus der Peptidsynthese bekannten Anker dienen meist nur zur Immobilisierung von Carbonsäuren. Ausnahme ist der Chlortrityl-Linker, an dem theoretisch alle nucleophilen

Substrate immobilisiert werden können. Der Rink-Amid-Linker ist eine säurelabile Ankergruppe, die eine Verknüpfung über ein Carbonsäureamid liefert. Die Abspaltung der Fluorenylmethoxycarbonyl(Fmoc)-Schutzgruppe erfolgt mit Piperidin, während die letztendliche Abspaltung des Syntheseprodukts mit starken Säuren erreicht wird (z.B.: 50 % Trifluoressigsäure (TFA) in DCM). Diese Ankergruppe ist mittlerweile auch als Säurelinker erhältlich. Beim Wang-Linker wird die erste Aminosäure als Ester an den Anker gebunden. Die Seitenketten sind während der Synthese mit Fmoc geschützt, während die Abspaltung ebenfalls mit starken Säuren durchgeführt wird).^[33] Bei der Oligonucleotidsynthese kann beispielsweise zur Anknüpfung ans Trägermaterial CPG Succinat als Linker verwendet werden. Das hergestellte Oligonucleotid wird dann mit NH_3 vom Träger abgespalten und entschützt.^[19, 71]

2.1.4 Beispiele für festphasengebundene Synthesen

a) Festphasenpeptidsynthese

Festphasenpeptidsynthesen verlaufen im Gegensatz zur Proteinbiosynthese vom Carboxy-Terminus in Richtung Amino-Terminus, wobei die Carboxy-terminale Aminosäure über einen Anker mit der festen Phase eines Trägermaterials verknüpft wird. Die Synthese der Peptidkette erfolgt dann in einem repetitiven Prozess. Die bekanntesten Synthesemethoden sind die Fmoc- und die *tert*-Butyloxycarbonyl-Schutzgruppe(Boc)-Strategie, die sich durch die jeweilige Schutzgruppe am *N*-Terminus der Aminosäurederivate und den dadurch zu wählenden Synthesebedingungen unterscheiden. Während die Fmoc-Schutzgruppe in einem stark basischen Reaktionsgemisch abgespalten wird, benötigt die Boc-Schutzgruppe stark saure Bedingungen für ihre Abspaltung. Abbildung 2.3 zeigt das allgemeine Prinzip einer Festphasenpeptidsynthese.

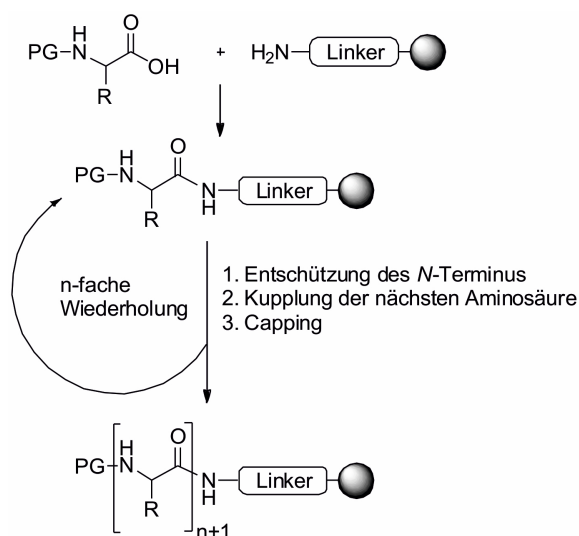


Abbildung 2.3. Schematische Darstellung der Festphasenpeptidsynthese nach Merrifield (PG=Schutzgruppe, engl. protecting group)).^[1]

In jedem Zyklus wird zunächst die freie Carboxylat-Gruppe einer geschützten Aminosäure aktiviert, bevor diese mit dem Amino-Terminus der bereits aufgebauten Peptidkette verknüpft wird. Nicht reagierte Aminogruppen werden meist inaktiviert (Capping), um Deletionen in der Peptidsequenz zu vermeiden. Die α -Aminofunktion der zuletzt gekuppelten Aminosäure wird selektiv entschützt, bevor der Zyklus wieder von neuem beginnt. Zum Abschluss der Synthese werden in der Regel die Aminofunktion des N-Terminus inaktiviert (End-Capping) und die Seitenketten-Schutzgruppen abgespalten. Anschließend oder auch gleichzeitig erfolgt die Abspaltung vom Trägermaterial, wobei die jeweiligen Bedingungen abhängig sind vom gewählten Linker zwischen Trägermaterial und Peptid.

b) Festphasensynthese von Peptid-Polymerkonjugaten

Peptid-Polymer-Konjugate bieten die Möglichkeit, die präzisen bindungsvermittelnden und strukturformenden Motive von Peptidsequenzen mit den Vorteilen synthetischer Polymere zu verbinden.^[72] Sie finden in unterschiedlichen Fachbereichen von Chemie und Biochemie Anwendung und zählen zur Klasse der Polymer-Biokonjugate. In der medizinischen Forschung werden sie beispielsweise als Wirkstofftransporter und in der Materialforschung als Biosensoren, künstliche Enzyme und nanoelektronische Bauelemente eingesetzt.^[72-73] Für die Synthese von Konjugaten gibt es verschiedene Varianten zur Verknüpfung synthetischer Polymere mit Peptidsequenzen.^[74] Eine Möglichkeit sind divergente Synthesestrategien, bei denen entweder der kettenförmige Aufbau des Polymers an einer Peptidstruktur erfolgt („grafting from“) oder Peptid-funktionalisierte Monomere in einer Polymerisationsreaktion umgesetzt werden („grafting through“).^[75] Eine weitere Möglichkeit bietet eine konvergente Strategie („grafting to“), bei der die Peptid- und Polymer-Komponenten direkt miteinander verknüpft werden.^[76] Auch bietet die inverse Konjugation eine Synthesestrategie, bei der durch Darstellung des Peptids an einem vorgefertigten synthetischen Polymer das Konjugat erhalten werden kann.^[76] Die für diese Arbeit interessanteste Verknüpfungsmethode ist die konvergente Synthesestrategie. Dabei erfolgt die direkte Verknüpfung eines Polymers mit einem separat synthetisierten Peptid. Die Kupplungsreaktion selbst sollte eindeutig definiert sein, um Nebenreaktionen zu vermeiden und einen vollständigen Umsatz zu erzielen.^[75] Die kovalente Verknüpfung von Polymer und Peptid kann beispielsweise durch Cycloadditionsreaktionen,^[77] Staudinger-Ligation,^[78] Peptidkupplungschemie^[79] oder eine Vielzahl weiterer selektiver Reaktionen^[80] realisiert werden. Die mögliche Verknüpfung über eine Peptidkupplung ist in Abbildung 2.4 aufgezeigt.

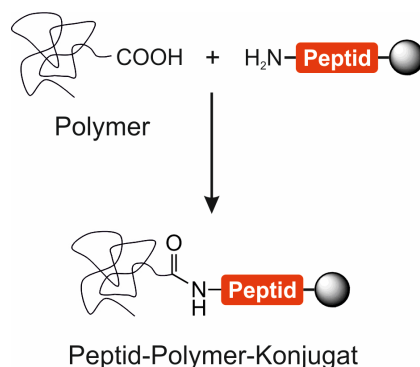


Abbildung 2.4. Konvergente Synthesestrategie von Peptid-Polymer-Konjugaten am Beispiel einer Peptidbindungsknüpfung zwischen einer Peptidsequenz an fester Phase und einem Polymer.^[79]

Dabei wird das gleiche Prinzip wie bei der Festphasenpeptidsynthese angewendet: Eine freie Carboxylat-Gruppe an einem Terminus eines Polymers wird aktiviert und anschließend mit einem freien Amino-Terminus einer vorher synthetisierten Peptidsequenz verknüpft. Das hergestellte Konjugat kann anschließend vom Synthescharz abgespalten werden.

c) Festphasensynthese von Oligonucleotiden

In den 1960-iger Jahren entwickelten Khorana *et al.* die erste anwendbare DNA-Synthesetechnik, allerdings noch als Reaktion in Lösung.^[81] In den frühen 1980-iger Jahren wurde dieses Verfahren durch schnellere Festphasen-Methoden ersetzt, die eine gleichzeitig Automatisierung der Oligonucleotid-Synthese erlaubten. Heute wird vor allem die Phosphoramidit-Methode zur Herstellung von Oligonucleotiden verwendet. Dieses Verfahren wurde 1965 von Robert Letsinger entworfen und von Marvin Caruthers 1981 weiterentwickelt.^[71, 82-83] Die Phosphoramidit-Methode umfasst zwei unterschiedliche Verfahren, das Phosphodiester- und das Phosphotriester-Verfahren. Dabei wird oft die sogenannte β -Cyanoethyl-phosphoramidit-Variante des Phosphittriesterverfahrens angewendet (Abbildung 2.5).^[19, 71]

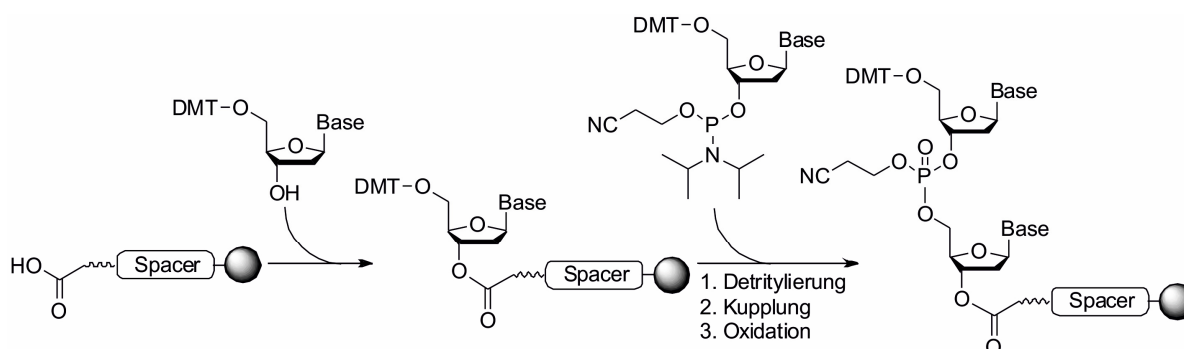


Abbildung 2.5. Schematische Darstellung des Phosphittriesterverfahrens zur Festphasengebundenen Synthese von Oligonucleotiden.^[19, 71]

Das erste Nucleotid-Monomer wird mit seinem 3'-Ende an eine feste Phase (Aminopropyl-Glas, Polydimethylacrylamid-Kieselguhr, aktives Silicagel) gebunden. Aufgrund der entstehenden hochreaktiven Tetrazolide sind die Reaktionszeiten der einzelnen

Reaktionsschritte sehr kurz. Durch eine Säurebehandlung, z.B. mit Di- oder Trichloressigsäure, wird die Dimethoxytrityl-Schutzgruppe (DMT) am 5'-Ende der wachsenden Oligonucleotidketten entfernt (Detritylierung). Anschließend wird ein 3'-Phosphoramidit-Derivat eines Desoxyribonucleosids, das an die nächste Position der Oligonucleotidkette gekuppelt werden soll, an das freigewordene 5'-Ende des Oligonucleotids geknüpft (Kupplung). Bei dieser Reaktion entsteht ein Phosphittriester, der im Folgenden zum Phosphotriester oxidiert wird. Nicht reagierte, freie Hydroxyl-Gruppen am 5'-Ende können inaktiviert werden. Dabei werden diese mit Essigsäureanhydrid acetyliert und damit die Verlängerung von falschen bzw. nicht erwünschten Oligonucleotiden verhindert.^[19, 71]

2.2 Kern-Schale-Nanopartikel und deren Applikation

2.2.1 Grundlagen

Der Beginn der heute weit entwickelten Nanotechnologie kann auf das Jahr 1959 datiert werden, in welchem der Nobelpreisträger Richard Feynman einen viel beachteten Vortrag mit dem Titel "*There's plenty of room at the bottom*" bei einem Treffen der American Physical Society hielt.^[84] Der Begriff "*Nanotechnologie*" wurde allerdings erst 1974 in einer Publikation von Norio Taniguchi verwendet.^[85] In den folgenden Jahrzehnten wurde die Forschung auf diesem Gebiet stark intensiviert und viele nanotechnologische Produkte auf den Markt gebracht, unter anderem Pigmente und Additive für Lacke und Kunststoffe, sowie auch Industrieruß (Carbon Black) in der Reifenindustrie.^[86] Das Herstellungspotenzial vergrößert sich jedoch stets durch neue und verbesserte Technologien.

Sonnenmilch werden zum Beispiel TiO_2 - und ZnO -Nanopartikel zwischen 30 und 80 nm zugesetzt. Dies ist ein gutes Beispiel für die optische Transparenz nanopartikulärer Dünnschichten. Die Größe der Nanopartikel unterschreitet dabei den Wellenlängenbereich des sichtbaren Lichts.^[87] Deshalb ist eine dünne Schicht der Sonnenmilch auf der Haut transparent für das menschliche Auge, während eine dicke Schicht aufgrund diffuser Mehrfachstreuung milchig weiß erscheint. Ein breites Anwendungsfeld von Nanopartikeln ist die heterogene Katalyse,^[88-90] bei der die Reaktion ausschließlich auf der Oberfläche der Kolloide abläuft. Dabei korreliert die verfügbare Katalysator-Oberfläche unmittelbar mit dem Stoffumsatz. Ein bemerkenswertes Beispiel ist die Verwendung von dendrimer-stabilisierten Pd-Nanopartikeln bei C-C-Bindungsknüpungen in einer Suzuki-Kupplung.^[91] Hier wird sogar ein Ansteigen der katalytischen Aktivität bei sinkender Katalysatorkonzentration beobachtet. Eine ähnliche Korrelation der Partikelgröße wurde außerdem für die Selektivität bei der Hydrierung ungesättigter Alkohole beobachtet.^[92] Nicht nur aufgrund des Kostenvorteils, wie im Fall von Edelmetallen, haben Nanopartikel bereits eine maßgebliche industrielle Relevanz in der heterogenen Katalyse.^[90] Weitere Anwendungsbeispiele sind TiO_2 bei schmutzabweisenden Oberflächen (Lotus-Effekt, Abb. 2.6), Dünnschicht-kondensatoren und leitfähige nanopartikuläre Oxide (Bsp.: Grätzel-Zelle).^[93]

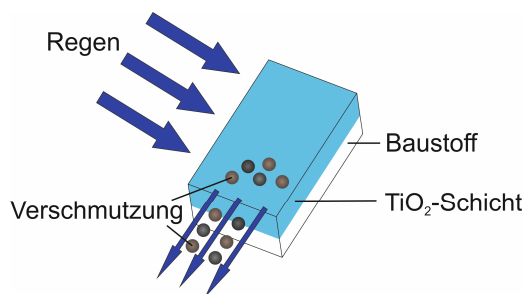


Abbildung 2.6. Selbstreinigende Wirkung TiO_2 -beschichteter Fassadenoberflächen (Lotus-Effekt).^[94]

Nanopartikel werden mittlerweile auch als adsorptive Farbpigmente verwendet. Dabei wird die optische Transparenz partikulärer Dünnschichten ausgenutzt.^[95] Substrate wie Glas oder Kunststoffe werden nach Einbettung von oder Beschichtung mit Pigment-Nanopartikeln gefärbt, bleiben aber dennoch optisch transparent. Große industrielle Anwendung finden diese Farbpigmente in Fahrzeuglackierungen, Farbfilter in Bildschirmen, Färbung von Kunststoffen und in der Kosmetik.^[96-97] Interessant sind dabei vor allem Metall-Nanopartikel, deren Plasmonenresonanz in den sichtbaren Bereich fällt.^[98] So können durch Gold- und Silber-Partikel bei präziser Kontrolle der Partikelgröße, Morphologie und Oberflächenfunktionalisierung Farbtöne im gesamten sichtbaren Spektralbereich erreicht werden (Abb. 2.7).^[99]

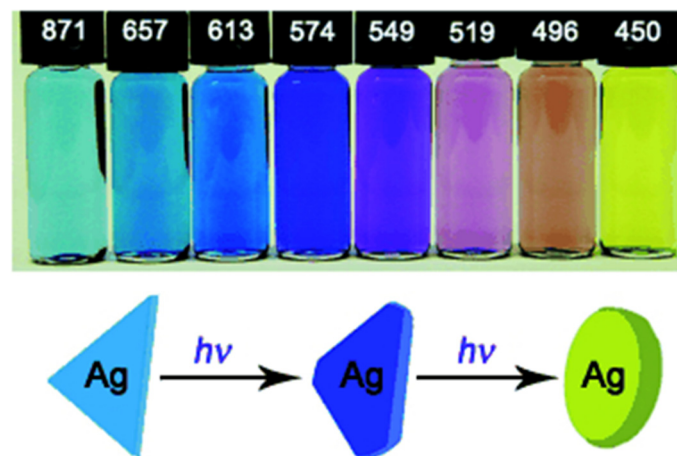


Abbildung 2.7. Silber-Nanopartikel können durch UV-Bestrahlung in Form und Farbe gezielt modifiziert werden.^[93, 100]

In der Medizin finden Nanopartikel außerdem Verwendung als Röntgenkontrastmittel.^[101] Auch in der Biosensorik gibt es mittlerweile viele bedeutungsvolle Anwendungen. Beispielsweise kann durch den Fluoreszenzenergietransfer (FRET) die Emission von Molekülen auf der Partikeloberfläche verstärkt werden.^[102-103] Auch ermöglichen plasmonische Nanosensoren den Nachweis von Zuckern, Peptiden, Enzymen, DNA, Hormonen Tumormarker, Viren und Zellen.^[104-107] Sogar die Beobachtung der intrazellulären Genregulation durch Oligonucleotid-funktionalisierte Goldpartikel ist heutzutage möglich.^[108] Eine weitere Anwendungsmöglichkeit sind lumineszente Biomarker. Die Lumineszenz findet beispielsweise in Fluoreszenzlampen, Leuchtdioden, Tomographen und Bildplattendetektoren Verwendung.^[109-111] Auch in der Molekularbiologie und der medizinischen Diagnostik und Therapie kommen Lumineszenzmarker zum Einsatz.^[112-117] Magnetische Nanopartikeln sowie auch Kern-Schale-Nanopartikel finden ebenfalls immer breitere Anwendungsmöglichkeiten in Industrie und Forschung.

2.2.2 Magnetische Nanopartikel

Magnetische Nanopartikel repräsentieren in der Wissenschaft als auch in der Technologie ein besonders interessantes Anwendungs- und Forschungsgebiet. Magnetpigmente geringer Größe sind zum Beispiel bereits seit Jahrzehnten von größter technischer Bedeutung, denn die Speicherdichte von Datenträgern hängt direkt mit der Zahl der Elementarmagnete zusammen.^[118-119] Magnetische Nanopartikel finden in heutiger Zeit immer mehr Beachtung. Zunächst wird hier allerdings die Theorie des Magnetismus näher betrachtet:

a) *Magnetismus*

Magnetische Eigenschaften der Festkörper werden wurden bereits von Wilhelm Klemm in den 1920er Jahren näher untersucht. Heute sind diese in vielen Standardwerken der Anorganischen Chemie detailliert dargestellt.^[120-121]

Ein Magnetfeld wird durch die magnetische Induktion B oder die magnetische Feldstärke H beschrieben, wobei im Vakuum *Gleichung 1* gilt:

$$B = \mu_0 H \quad (\text{Gleichung 1})$$

Dabei stellt μ_0 die magnetische Feldkonstante die sogenannte Vakuumpermeabilität ($\mu_0 = 4\pi \cdot 10^{-7} \frac{Vs}{Am}$) dar.^[120] Die magnetische Induktion kann als die Dichte von Feldlinien beschrieben werden. Dabei können die Feldlinien je nach Körper verdichtet oder auseinandergedrängt werden. Im ersten Fall wird der Körper als „paramagnetisch“ bezeichnet, im zweiten Fall als „diamagnetisch“. Wird ein Körper in ein homogenes Magnetfeld geführt, so gibt es eine innere Induktion B_{innen} und eine äußere Induktion $B_{au\beta en}$. Diese stehen in folgender Beziehung zueinander:

$$B_{innen} = \mu_r B_{au\beta en} \quad (\text{Gleichung 2})$$

Hier ist μ_r eine stoffabhängige, dimensionslose Permeabilitätszahl und gibt die relative magnetische Permeabilität an. Die dazukommende oder wegfallende Induktion kann als magnetische Polarisation J bezeichnet werden. Es gilt also:

$$B_{innen} = B_{au\beta en} + J \quad (\text{Gleichung 3})$$

Während die Permeabilität μ die relative magnetische Durchlässigkeit eines Körpers beschreibt, ist bei der Untersuchung von magnetischen Eigenschaften die Aufnahmefähigkeit, oder Suszeptibilität χ des Körpers eine anschaulichere Betrachtung des magnetischen Verhaltens. Folgende Beziehung gilt:

$$J = \chi_V B_{au\beta en} \quad (\text{Gleichung 4})$$

Dadurch wird die Suszeptibilität χ_V eines Stoffes erhalten, die ebenfalls eine dimensionslose Proportionalitätskonstante darstellt. Mit dieser lässt sich letztendlich die Magnetisierung M berechnen, wobei gilt:

$$M = \chi_V H \quad (\text{Gleichung 5})$$

und

$$J = \mu_0 M \quad (\text{Gleichung 6})$$

Die Magnetisierung wird angegeben in $\left[\frac{A}{m}\right]$ und ist die Dichte der magnetischen Momente m pro Volumeneinheit des Materials ($M = \frac{\sum m}{V}$).^[120] Mit Hilfe der Permeabilitätszahl μ_r bzw. der Suszeptibilität χ_V lässt sich eine Einteilung der Materie in drei Gruppen vornehmen:^[120-121]

Tabelle 2.2. Einteilung der Materie mit Hilfe der Permeabilitätszahl μ_r bzw. der Suszeptibilität χ_V ^[120-121]

Art der Materie	μ_r	χ_V
Diamagnetische Stoffe	$\mu_r < 1$	-10^{-5} bis -10^{-4}
Paramagnetische Stoffe	$\mu_r > 1$	$+10^{-5}$ bis $+10^{-3}$
Ferromagnetische Stoffe	$\mu_r \gg 1$	$+10^4$ bis $+10^5$

Diamagnetische Stoffe sind Atome, Ionen oder Moleküle, die abgeschlossene Elektronenschalen haben. Die Spin- und Bahnmomente der Elektronen kompensieren sich und somit resultiert kein magnetisches Moment in diesen Stoffen. Die meisten Substanzen sind diamagnetisch, da die ungepaarten Elektronen der Atome bei der Bildung von Bindungen abgesättigt werden. Bei paramagnetischen Stoffen sind dagegen ungepaarte Elektronen vorhanden, weshalb sie ein permanentes magnetisches Moment besitzen. Diese magnetischen Momente sind statistisch verteilt und heben sich gegenseitig auf (Abbildung 2.8). Wird allerdings ein äußeres magnetisches Feld angelegt, richten sich die Momente in Feldrichtung aus. Es entsteht folglich ein Magnetfeld, dass dem äußeren gleichgerichtet ist. Die paramagnetische Suszeptibilität ist unabhängig von der Feldstärke, aber temperaturabhängig. Eine Zunahme der Temperatur wirkt der Ausrichtung der permanenten Magnete im äußeren Feld entgegen.

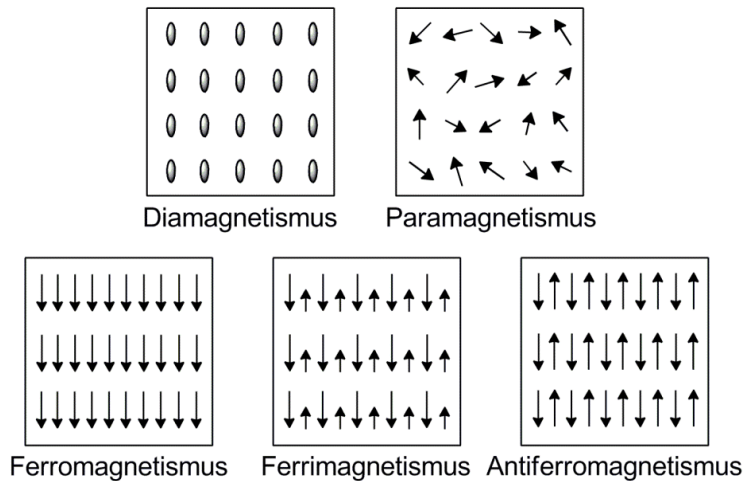


Abbildung 2.8. Schematische Übersicht von möglichen Spinanordnungen verschiedener Magnetismusvarianten.^[122]

Bei ferromagnetischen Materialien erfolgt innerhalb eines kleinen Bereichs, der sogenannten Weiss'schen Bezirke, eine parallele Kopplung der Spins benachbarter Atome (Abb. 2.8). Nach außen sind diese Stoffe unmagnetisch, da die Richtung der Magnetisierung der einzelnen Weiss'schen Bezirke statistisch verteilt ist. Bei einem angelegten Magnetfeld erfolgt eine Magnetisierung und die Weiss'schen Bezirke richten sich aus. Mit steigender Temperatur orientieren sich die Spinmomente innerhalb der Weiss'schen Bezirke antiparallel zueinander, die magnetische Polarisation und Suszeptibilität nehmen ab. Bei ferrimagnetischen Stoffen erfolgt innerhalb eines Weiss'schen Bezirks eine antiparallele Kopplung verschieden großer Spinmomente (Abb. 2.8). Dadurch resultiert ein magnetisches Moment welches eine spontane Magnetisierung hervorruft. Es wird das gleiche Verhalten beim Anlegen eines äußeren Magnetfeldes und der Erhöhung der Temperatur beobachtet wie bei ferromagnetischen Materialien. Bei antiferromagnetischen Materialien erfolgt eine spontane antiparallele Kopplung gleich großer Momente in einem Weiss'schen Bezirk (Abb. 2.8). Beim absoluten Temperaturnullpunkt ist die Ausrichtung vollständig und es herrscht Diamagnetismus. Bei steigender Temperatur und damit verbundener Wärmebewegung ist die Kopplung gestört und die Suszeptibilität nimmt bis zur sogenannten Néel-Temperatur T_N zu. Oberhalb von T_N verhalten sich die Substanzen dann paramagnetisch und χ_V nimmt dann wieder ab.^[120] Beispiele für einige vorgestellte Magnetismus-Varianten zeigt Tabelle 2.3:

Tabelle 2.3. Beispiele für verschiedene Magnetismus-Varianten ^[120]

<i>Magnetismus</i>	<i>Beispiele</i>
Ferromagnetismus	Fe, Co, Ni, Gd, Dy, EuS, CrO ₂
Ferrimagnetismus	Ferrite (z.B. Fe ₃ O ₄), Granate
Antiferromagnetismus	MnO, CoO, NiO, FeF ₂ , MnF ₂

Kristalline ferro- und ferrimagnetische Stoffe sind dadurch gekennzeichnet, dass ihre magnetischen Momente unterhalb der Curie-Temperatur T_C zu einem erhöhten Gesamtmoment koppeln. Mit abnehmender Partikelgröße auf Größe der Weiss'schen Bezirke ($d_{\text{Partikel}} \leq 20 \text{ nm}$) bestehen die Nanopartikel nur noch aus einer einzigen magnetischen Domäne. Diese Partikel verhalten sich wie ein Paramagnet mit einem großen magnetischen Moment, woraus letztendlich der Name *Superparamagnetismus* abgeleitet werden kann.^[123] Eine charakteristische Eigenschaft für superparamagnetische Nanopartikel ist die Abwesenheit einer magnetischen Remanenz. Es existiert also keine Restmagnetisierung. Auch bei Temperaturen unterhalb von T_C gibt es keine bleibende Magnetisierung, wenn ein zuvor angelegtes Magnetfeld entfernt wurde.

b) Anwendungen magnetischer Nanomaterialien

In den letzten Jahren erfuhren superparamagnetische Materialien eine steigende Bedeutung durch Anwendung als magnetische Flüssigkeiten, bei der magnetischen Separation oder in der magnetothermischen Therapie.^[69, 124] Die ersten artifiziell hergestellten magnetischen Nanopartikel wurden allerdings schon im Jahr 1963 synthetisiert. In den 1960er Jahren suchte die NASA nach Möglichkeiten Flüssigkeiten im Weltraum zu kontrollieren. Daraufhin entwickelte S. Papell eine Flüssigkeit, die mit Hilfe eines magnetischen Feldes kontrolliert werden kann.^[125] Heutigen moderne magnetischen Materialien werden als Ferrofluide bezeichnet und sind stabile Dispersionen aus superparamagnetischen Nanopartikeln, die in hochviskosen Flüssigkeiten suspendiert sind.^[126] Dabei ist eine Manipulation durch externe Magnetfelder möglich, wodurch die Viskosität, die Strömungsgeschwindigkeit oder die Strömungsrichtung verändert werden kann. Die Partikel folgen schnell dem externen Feld mit vernachlässigbaren Reibungsverlusten. Technische Nutzung finden diese Partikel zum Beispiel in Spezialpumpen, schnellen Ventilschaltungen oder als Kühl- und Dichtflüssigkeiten (Abbildung 2.9).^[126-127] Die Schaltbarkeit des magnetischen Verhaltens ist dabei von entscheidender Bedeutung bei diesen Anwendungen.

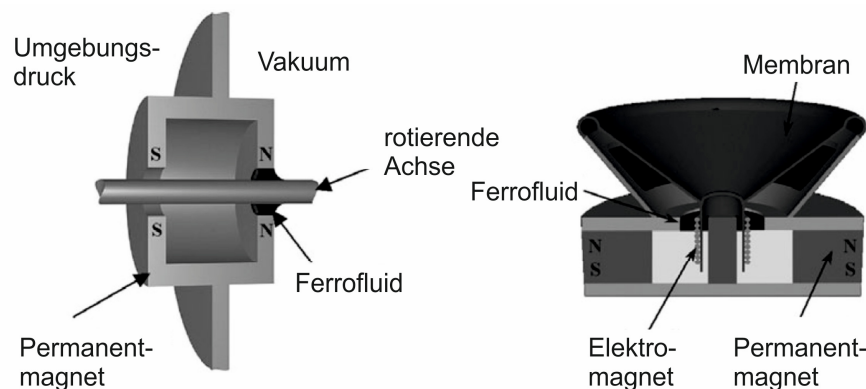


Abbildung 2.9. Zwei Beispiele für Anwendungen von Ferrofluiden: links: Abdichtung um eine rotierende Welle, rechts: Kühlmittel in einem Lautsprecher.^[126]

Hochinteressant ist auch die magnetische Separation, welche die einfache und schnelle Abtrennung von magnetischen Nanopartikeln durch Anlegen eines externen Magnetfeldes (Permanentmagnet oder elektromagnetische Spulen) ermöglicht. Dadurch ist beispielsweise auch die Abtrennung von Substanzen aus einem Reaktionsgemisch möglich, die an die Nanopartikel gebunden sind. Beispiele für Anwendungen dieser Art finden sich in der Abtrennung von Katalysatoren, toxischen oder radioaktiven Metallen, Pharmazeutika und sogar Zellen.^[128-130] Yavuz *et al.* gelang es gelöstes Arsen (z.B. AsO_3^{3-}) durch Adsorption an $\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$ - bzw. Fe_3O_4 -Nanopartikeln aus Trinkwasser abzutrennen.^[131] Auch konnten bereits Proteine und Gene durch oberflächenfunktionalisierte Eisenoxid-Nanopartikel erfolgreich aus Reaktionslösungen abgetrennt werden.^[132-133] Besonders vielversprechend sind die Anwendungen in der Molekularbiologie und Medizin, vor allem der Einsatz von superparamagnetischen $\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$ -, Fe_3O_4 - und Fe-Nanopartikeln. Bei geeigneter Oberflächenfunktionalisierung (z.B. mit Antikörpern) ist eine spezifische Andockung an Zellen (z.B. Tumorzellen) oder sogar eine Einschleusung in dieselben möglich.^[93] Die magnetischen Partikel können dann mittels Kernspintomographie (MRI, magnetic resonance imaging) in Echtzeit und auf zellulärer Ebene detektiert werden.^[134-135] Dabei wird die Spin-Spin-Relaxationszeit der umgebenden Wassermoleküle durch die magnetischen Nanopartikel verkürzt, was zu einer enormen Kontrastverstärkung führt.^[136-138] Dadurch ist es möglich Krankheitsbilder (z.B. Brust- oder Darmkrebs) mit sehr hoher Ortsauflösung aufzunehmen.^[139-141] Auch in der Krebstherapie kommen bereits magnetische Nanopartikel zum Einsatz. Beispielsweise werden sogenannte Hybridpartikel verwendet, die aus einem Eisenoxidkern und einer SiO_2 - oder Polymerhülle bestehen, an denen wiederum Wirkstoffe wie Doxorubicin oder HER2/neu-Antikörper angebunden oder eingelagert sind. Die Partikel können so gezielt über externe Magnetfelder an ihrem Wirkungsort angereichert werden, wobei dort ggf. der Wirkstoff freigesetzt wird.^[142-143] Es gelang sogar durch Verwendung von superparamagnetischen $\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$ -Partikeln eine in-vivo-Beobachtung des Lipoprotein-Stoffwechsels in Echtzeit.^[144] Neben den bekannten Eisenoxiden haben auch andere Substanzen (z.B. MnFe_2O_4 , ZnFe_2O_4 , MnO und FeCo) Anwendung als magnetisches Kontrastmittel gefunden.^[134-135, 140, 145-147] Allerdings ist die hohe Biokompatibilität der große Vorteil der Eisenoxide. Paramagnetische Nanopartikel werden mittlerweile ebenfalls in der Kernspintomographie eingesetzt, dabei bevorzugt Seltenerdmetallverbindungen, wie zum Beispiel Gd_2O_3 .^[148-150] Bei entsprechender Oberflächenfunktionalisierung gelingt auch hier eine spezifische Anbindung der Partikel an Tumorzellen, die anschließend einen diagnostischen Befund mit hoher Ortsauflösung liefert.

c) Die Eisenoxide

Eisenoxidpigmente wurden schon in prähistorischen Zeiten als farbgebende Verbindungen verwendet. α -FeOOH (gelb), α -Fe₂O₃ (rot) und Fe₃O₄ (schwarz) sind dabei die am häufigsten verwendeten Pigmente, die gegenwärtig bei Farben und Lacken, sowie zur Einfärbung von Betonbaustoffen verwendet werden.^[120] Eisenoxide wie Magnetit (Fe₃O₄) und Maghämīt (Fe₂O₃) sind für die Verwendung als magnetische Nanopartikel von besonderem Interesse, da sie ferrimagnetisch sind. Magnetit kommt als schwarzes Mineral vor und kristallisiert in der inversen Spinell-Struktur Fe³⁺(Fe²⁺Fe³⁺)O₄ (Abbildung 2.10). Die Sauerstoffatome bilden dabei ein kubisch flächenzentriertes Gitter entlang der [111]-Richtung, bei dem die Eisenionen die Zwischengitterplätze einnehmen.^[151] Das A-Untergitter ist durch eine tetraedrische Sauerstoffkoordination (T_d) um die Eisen(III)-Ionen herum charakterisiert. Das B-Untergitter wird hingegen durch eine oktaedrische Koordination (O_h) dargestellt. Dabei sind die Eisen(II)- und Eisen(III)-Ionen statistisch verteilt. Auf den Oktaederplätzen erfolgt ein schneller Elektronenaustausch zwischen den Fe²⁺- und Fe³⁺-Ionen. Daher ist Magnetit ein guter elektrischer Leiter. Außerdem ist es beständig gegen Säuren, Basen und Chlor, weshalb es auch für Elektroden verwendet wird.^[120]

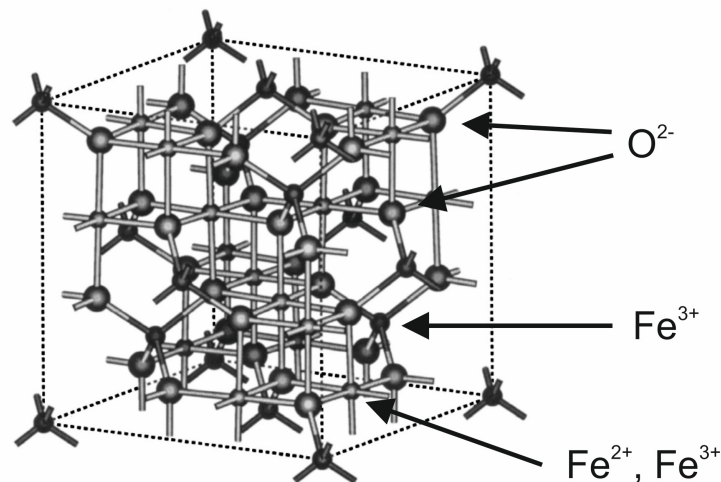


Abbildung 2.10. Inverse Spinellstruktur von Magnetit. Dabei entsprechen die großen grauen Atome den Sauerstoffatomen, die kleinen schwarzen Kugeln der A-Seite und die kleinen hellgrauen Kugeln der B-Seite.^[151]

Maghämīt γ -Fe₂O₃ kristallisiert in einer Defektspinellstruktur (Fe³⁺)₂O₃ mit Leerstellen im oktaedrisch koordinierten Untergitter. Es ist ebenfalls ferrimagnetisch und wurde u.a. für Magnetbänder verwendet. Zugänglich ist es beispielsweise durch Oxidation von Fe₃O₄ bei 250-300 °C. Es kristallisiert in der gleichen Spinellstruktur wie Magnetit, jedoch sind keine divalenten Ionen enthalten. Die Eisen(III)-Ionen befinden sich mit unterschiedlicher Sauerstoffkoordination in einem A- und B-Untergitter. Aufgrund dieser ungleichen Verteilung ergibt sich der Ferrimagnetismus von Maghämīt. Das andere Drittel des oktaedrisch koordinierten B-Untergitters (O_h-Seite) ist vakant. Diese Vakanz kompensiert das Ladungsungleichgewicht und erzeugt eine neutrale Struktur.

2.2.3 Kern-Schale-Partikel

Bei vielen Anwendungen von Nanopartikeln, zum Beispiel der Katalyse, ist eine große Oberfläche mit vielen reaktiven Zentren bzw. Defekten erwünscht. Diese kann sich aber nachteilig auf die Stabilität der Partikel auswirken. Nanopartikel neigen zur Bildung von Aggregaten bzw. Agglomeraten, da diese mit einer Energieerniedrigung verbunden sind. Agglomerate sind eine Ansammlung von schwach gebundenen Partikeln, die durch schwache Kräfte, zum Beispiel Van-der-Waals-Kräfte, zusammengehalten werden. Aggregate dagegen sind fest gebundene Partikel, die durch starke Kräfte, wie zum Beispiel kovalente Bindungen oder solche, die auf Sintern oder komplexen physikalischen Verhakungen beruhen, zusammengehalten werden.

Dazu sind die meisten ungeschützten metallischen Nanoteilchen chemisch hochreaktiv und oxidieren leicht an der Luft. Dies führt dann auch meist zum Verlust der magnetischen, optischen und katalytischen Eigenschaften und der Dispergierbarkeit.^[69] Daher ist für viele Anwendungen ein Schutz der metallischen Partikel gegen Zersetzung erforderlich, beispielsweise durch eine schützende Hülle.

Kern-Schale-Partikel bestehen allgemein betrachtet aus einem Kern (inneres Material) und einer Schale (äußere Materialschicht). Diese können aus zwei oder mehr Materialien in unterschiedlichen Kombinationen zusammengesetzt sein, beispielsweise anorganisch/anorganisch, anorganisch/organisch, organisch/anorganisch oder organisch/organisch. Dabei hängt die Wahl des Schalenmaterials stark von der letztendlichen Anwendung der Partikel ab.^[152] Verschiedene Formen von Kern-Schale-Nanopartikeln sind schematisch in Abbildung 2.11 aufgezeigt.

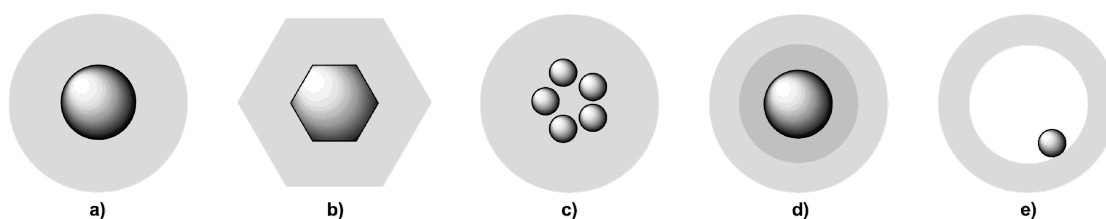


Abbildung 2.11. Verschiedene Formen von Kern-Schale-Nanopartikeln: a) konzentrisch-spärlich; b) hexagonal; c) Einschluss von mehreren kleinen Kernpartikeln in ein Schalenmaterial; d) multiple Schalen unterschiedlicher Materialien; e) bewegliches Kernpartikel in hohlem Schalenmaterial.

Klassisch konzentrisch-sphärische Kern-Schale-Nanopartikel (Abbildung 2.11 a) bestehen aus einem sphärischen Partikel als Kern, welches von einer Schale aus einem unterschiedlichen Material umhüllt wird. Andere Formen können zum Beispiel durch Verwendung von nicht-sphärischen Kern-Partikeln hergestellt werden (2.11 b). Auch der Einschluss mehrerer Kernpartikel in ein Schalenmaterial ist möglich (2.11 c). Desweiteren können zwei oder mehr Schalen aus unterschiedlichen Materialien einen Kern umschließen

(2.11 d).^[153-156] Mit einem geeigneten Verfahren ist es bei mehreren Schalen außerdem möglich durch Entfernen der ersten Schalenschicht ein bewegliches Kernpartikel in eine ausgehöhlte Schale einzubetten (2.11 e).^[152]

Strategien für den Aufbau von Kern-Schale-Nanopartikeln bestehen in einer Ummantelung der Partikel mit organischen Verbindungen (Bsp.: Tenside oder Polymere)^[157-161] oder mit einer anorganischen Schale aus Kohlenstoff,^[162] Edelmetallen (wie Ag,^[163] Au^[164-165]) oder Oxiden (wie Silica^[166]), die durch milde Oxidation der äußeren Schale der Nanopartikel hergestellt oder aber nachträglich aufgebracht werden.^[167] Eine weitere Möglichkeit bietet die Suspension magnetischer Partikel in einer dichten Matrix, typischerweise aus einem Polymer, Silicat oder Kohlenstoff, wobei die Partikel dann im Raum relativ zueinander fixiert sind, was oft unerwünscht ist. Individuell geschützte Nanopartikel können dagegen frei dispergiert werden und sind gerade wegen der sie umgebenden Schale in einigen Medien stabil.^[168]

Tenside und Polymere können dazu eingesetzt werden, um die Oberfläche von Nanopartikeln während oder nach der Synthese zu passivieren oder auch zu aktivieren. Dadurch kann eine Agglomeration oder Aggregation der Partikel unterbunden werden. Zwei Möglichkeiten zur Erhöhung der Stabilität von beispielsweise Ferrofluiden sind die Kontrolle der Oberflächenladung^[169] und die Verwendung spezifischer Tenside.^[170-172] Magnetit-Partikel, die durch Cofällung von Eisen(II)- und Eisen(III)-Ionen in Ammoniak oder Natronlauge hergestellt werden, sind negativ geladen, was zur Agglomeration führen kann. Durch Zugabe von wässriger Tetramethylammoniumhydroxid-Lösung (TMAH) und von Tensiden können stabile, gut dispergierte Kolloide erhalten werden.^[169] Diese Tenside und auch Polymere können chemisch wie auch physikalisch auf den magnetischen Nanopartikeln verankert werden. Dabei bilden sie eine Mono- oder Doppelschicht aus,^[173-174] die meist sterisch stabilisierend wirkt. Es wird ein Gleichgewicht zwischen Van-der-Waals-Kräften und den magnetischen Anziehungskräften geschaffen, welche auf die Nanopartikel wirken.^[69] Die magnetischen Partikel werden somit durch sterische Abstoßung in Suspension gehalten. Über funktionelle Gruppen, wie Carbonsäuren, Phosphate oder Sulfate können einige Polymere an die Oberfläche des Magnetits binden.^[175] Geeignete Polymere für diese Anwendungen sind zum Beispiel Poly(pyrrole), Poly(aniline), Poly(alkylcyanacrylate), Polyester, Poly(lactate), Poly(glycolsäuren), Poly(ϵ -caprolactone) und ihre Copolymere.^[176-179]

Ein hochinteressantes Produkt ist das sogenannte MagSilica® von der Firma *Evonik Industries*. Dabei handelt es sich um Maghemit-Kristalle (Fe_2O_3), die isoliert voneinander in einer Silica-Matrix eingeschlossen sind.^[180] Die Matrix sorgt für die chemische und thermische Beständigkeit der Eisenoxidkristalle, die auf ein externes Magnetfeld reagieren können. Laut Herstellerangaben handelt es sich um 5 bis 40 nm große Domänen aus

Maghemit, während die Schichtdicke der Silica-Schale variieren kann und Aggregatgrößen bei circa 150 nm liegen.^[181-184]

Durch die Reaktion auf ein externes Magnetfeld lassen sich die MagSilica®-Partikel in verschiedenen Anwendungen nutzen. Beispielsweise wurden verschiedene Klebstoff-Partikel-Gemische hergestellt, die hochfrequenten Magnetfeldern zwischen 200 kHz und 1 MHz ausgesetzt wurden, um sie schnell zu erwärmen und somit eine beständige, ausreichend feste Klebeverbindung zu erhalten. Messungen und Modellrechnungen ergaben erreichbare Festigkeiten von ca. 11 MPa, einem Vielfachen der Zugfestigkeit der Fügebauteile.^[183] Um eine Klebeverbindung wieder zu lösen, muss man dieser die Energie schnell mit hohen Heizraten zuführen, da sonst die Wärme in die jeweiligen Bauteile dissipiert. Eine weitere mögliche Verwendung von MagSilica® zeigten Nador *et al.*, indem sie Katalysatoren für Alkylkupplungs- und Cycloadditionsreaktionen in Gegenwart von Kupfernanopartikeln an die mit Silica beschichteten Maghemit-Partikel koppelten.^[185] Durch den schaltbaren Magnetismus kann der jeweilige Katalysator sehr einfach aus Reaktionslösungen entfernt und erneut eingesetzt werden.

2.2.4 Synthesemöglichkeiten für Nanomaterialien

Die meisten synthetisch hergestellten Nanomaterialien sind Nanopartikel (ca. 80 %).^[86] Je nach Einsatzgebiet der Nanopartikel ist eine genau definierte Größenverteilung erforderlich, die jedoch von der chemischen Zusammensetzung der Partikel abhängt. Um eine entsprechende Größenverteilung von Nanopartikeln zu erreichen, gibt es unterschiedliche Herstellungsverfahren. Verfahren in Lösungen oder Verfahren der Selbstorganisation kommen dabei am häufigsten zur Anwendung. Viele Anwendungen benötigen eine hoch definierte Form, sowie einen engen Größenbereich der Partikel (Monodispersität).^[86] Es wurden vielfältige und spezifische Syntheseprozesse für Nanopartikel, Coatings, Dispersionen und Komposite entwickelt, für die jeweils definierte Produktions- und Reaktionsbedingungen gelten. Die Partikelgröße, die chemische Beschaffenheit, Kristallinität und Form können je nach Syntheseweg über die Temperatur, den pH-Wert, Konzentrationen oder auch Oberflächenmodifikationen kontrolliert werden.^[86]

Zur Herstellung von Nanopartikeln werden zwei Strategien verfolgt: die "top-down"- und die "bottom-up"-Variante. Der Begriff "top-down" beschreibt dabei das mechanische Zerkleinern von Ausgangsstoffen durch extern kontrollierte Werkzeuge. Am meisten verwendet werden dabei lithographische Techniken, Laser-Bearbeitung und mechanisches Zerkleinern in Mahlprozessen.^[152] Diese Variante wird vor allem zur Herstellung von metallischen und keramischen Nanopartikeln angewendet. Für metallische Nanopartikel werden dabei beispielsweise Metalloxide pulverisiert unter Verwendung von Hochleistungskugelmøhlen

mit Mahlkörpern aus Wolframcarbid oder Stahl.^[86] Der Mahlprozess beinhaltet eine hohe thermische Beanspruchung und benötigt viel Energie. Übermäßig lange Prozesse können das Schleifmaterial verschleifen und so die Nanopartikel kontaminieren. Das reine mechanische Mahlen kann durch chemische Reaktionen optimiert werden, um Kontaminationen zu minimieren. Im Vergleich zu rein chemischen Herstellungsverfahren liefern Mahlprozesse einen relativ breiten Partikelgrößenbereich und sind bei der Kontrolle der Partikelform ebenfalls eingeschränkt.

"Bottom-up"-Prozesse basieren auf physikalisch-chemischen Grundlagen der molekularen oder atomaren Selbstorganisation und beschreiben den gezielten Aufbau von Strukturen durch chemische Reaktionen. Dabei liefert dieser Ansatz eine wesentlich bessere Kontrolle der Größe, Form und des Größenbereichs der hergestellten Partikel. Wichtige Untergruppen sind beispielsweise Gasphasenprozesse (Aerosolverfahren), laserinduzierte Aggregation, verschiedene Fällungsreaktionen und Sol-Gel-Prozesse.^[86, 152] Für die Herstellung von Nanomaterialien im industriellen Maßstab in Pulver- oder Schichtform werden Gasphasenprozesse am häufigsten verwendet.

Bei dem Konzept wird ein Dampf des Produktmaterials auf chemischem oder physikalischem Wege erzeugt. Die Bildung erster Nanopartikel im flüssigen oder festen Zustand erfolgt durch homogene Keimbildung. Weiteres Partikelwachstum findet je nach Prozess durch Kondensation, durch chemische Reaktionen an der Partikeloberfläche und/oder durch Koagulations- bzw. Koaleszenzvorgänge statt.^[86] Beispiele für Gasphasenprozesse sind Verfahren in Flammen-, Plasma-, Laser- und Heißwandreaktoren, die bei der Herstellung von Fullerenen und Kohlenstoffnanoröhrchen verwendet werden. In Flammenreaktoren werden Nanopartikel durch die Zersetzung von Ausgangsmolekülen in der Flamme bei relativ hohen Temperaturen (ca. 1.200 bis 2.200 °C) gebildet.^[86, 181, 186] Diese Variante wird großtechnisch für die Herstellung von Ruß, Titandioxid- und Siliziumdioxidnanopartikel verwendet. In Plasmareaktoren liefert ein ionisiertes Gas (Plasma) die Energie für die Verdampfung und zur Initialisierung von Zersetzungsreaktionen.^[86] In Laserreaktoren wird das gasförmige Edukt mit einem Laser selektiv über die Absorptionswellenlänge erhitzt und zum gewünschten Produkt zersetzt. In Heißwandreaktoren wird das Prinzip von Verdampfung und Kondensation angewendet.^[86] Das Ausgangsmaterial wird bei niedrigem Druck (ca. 1 mbar) in ein reaktionsträges Gas verdampft, welches die angereicherte Gasphase aus der heißen Zone entfernt. Die durch schnelles Abkühlen gebildeten Partikel werden auf Filtern gesammelt. Großtechnisch werden Heißwandreaktoren u.a. für die Herstellung von nanoskalierten Nickel- und Eisenpulvern verwendet. Beim chemischen Gasphasenabscheidungsverfahren werden Nanopartikel direkt aus der Gasphase auf Oberflächen abgeschieden. Dabei wird der Ausgangsstoff im Vakuum verdampft und an einer erhitzten Oberfläche in einer chemischen Reaktion kondensiert.^[86]

Die im vorigen Abschnitt vorgestellten MagSilica®-Partikel werden großtechnisch in einem Flammenprozess hergestellt. Der schematische Aufbau des eingesetzten Niederdruck-Flammenreaktors ist in Abbildung 2.12 gezeigt. Dieser besteht aus einem wassergekühlten Brenner mit horizontaler Strömungsrichtung für vorgemischte Gase, welcher sich in einer Vakuumkammer befindet. Als Brennstoff dient Wasserstoff, Sauerstoff dient als Oxidator und Argon als Verdünnungsgas. Alternativ können auch Acetylen oder Propan als Brennstoffe eingesetzt werden. Verdampfbare Prekursoren können direkt oder mit Hilfe eines Gassättigers zugeführt werden. Der entstehende Molekularstrahl wird mit einem Partikelmassenspektrometer (PMS) analysiert.^[181, 186] Aufgrund der hohen Energiedichte in der Flamme können die Prekursoren in relativ großen Konzentrationen eingesetzt werden. Die Flammentemperaturen liegen zwischen 1000 und 2400°C.^[180] Die Aufenthaltsdauer im heißesten Bereich beträgt nur zwischen 10 und 100 ms. Diese Zone ist entscheidend für die Bildung der Primärteilchen, die im Flammenreaktor maximal 500 nm groß werden können.^[181, 186] Außerhalb dieser Zone sind nur noch Größe und Morphologie der Partikel beeinflussbar.

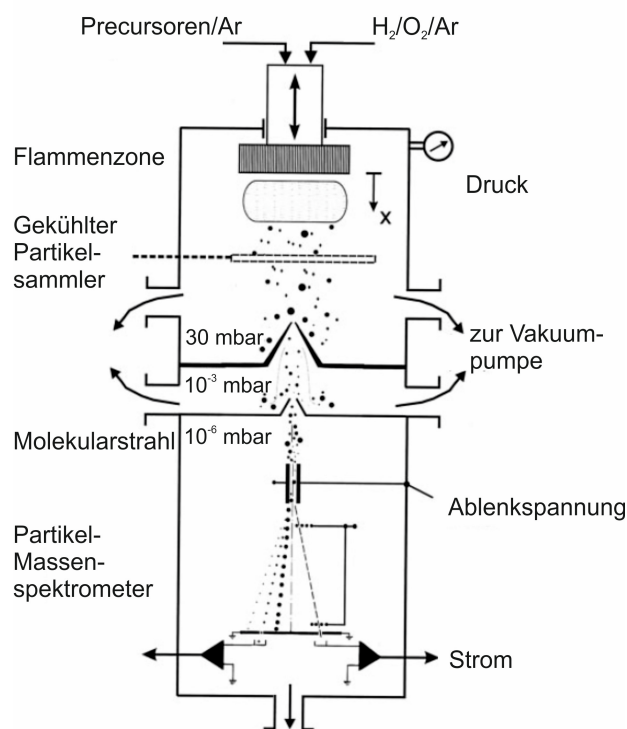


Abbildung 2.12. Schematischer Aufbau eines Niederdruck-Flammenreaktors mit integriertem Partikel-Massenspektrometer (PMS).^[181, 186]

Neben dem Flammentyp haben vor allem das Temperaturprofil, die Verweilzeit und die Konzentration der Prekursoren Einfluss auf die Herstellung der Partikel, die teilweise nicht unabhängig voneinander einstellbar sind. Das Arbeiten im Unterdruck nach dem Molekularstrahl bewirkt einen Verdünnungseffekt, der die Aggregation der entstehenden Partikel minimiert. Im Vergleich zu beispielsweise Heißwand- oder Plasmareaktoren liegt der

Vorteil des Flammenreaktors vor allem in der Scale-Up-Fähigkeit und der Flexibilität bezüglich der einzusetzenden Prekursoren.

Nanopartikel können auch mit Hilfe von Fliehkraft, Druckluft, Schall, Ultraschall, Vibrationen und Elektrostatik aus Tropfen gebildet werden.^[86] Die Tropfen können entweder durch direkte Pyrolyse oder durch direkte Reaktion mit einem anderen gasförmigen Edukt in Pulver umgewandelt werden. Bei der Sprüh-Pyrolyse werden Tropfen des Ausgangsstoffes durch ein Hochtemperaturfeld (z.B. Flamme, Ofen) transportiert. Dies führt zu einer raschen Verdampfung der leicht flüchtigen Komponente oder zu Zersetzungsreaktionen. Die gebildeten Nanopartikel werden anschließend mit Hilfe von Filtern gesammelt.^[86, 187-188]

Die nasschemische Synthese von Nanopartikeln läuft in der Regel bei niedrigeren Temperaturen als die Gasphasensynthese ab. Die wichtigsten Flüssigphasenprozesse sind Fällungen, Sol-Gel-Prozesse und Hydrothermal-Synthesen. Die Fällung von Feststoffen aus einer Metallionen enthaltenden Lösung ist eines der am häufigsten verwendeten Herstellungsverfahren von Metalloxiden, nicht-oxidischen und auch metallischen Nanopartikeln.^[86] Das Prinzip basiert auf Reaktionen von in Lösungsmitteln gelösten Ausgangssalzen. Ein zugegebenes Fällungsreagenz führt zur Bildung des gewünschten Partikelniederschlags, welcher anschließend abfiltriert und thermisch nachbehandelt wird. Die Partikelgröße und -größenverteilung, Kristallinität und Morphologie werden durch die Reaktionsgeschwindigkeit bestimmt. Einflussfaktoren sind neben der Konzentration der Ausgangsstoffe die Temperatur, der pH-Wert der Lösung, die Reihenfolge der Zugabe der Ausgangsstoffe und Mischvorgänge.

Eine Möglichkeit der Größenkontrolle bietet die Verwendung von selbstanordnenden Membranen, wie Mikroemulsionen, Blasen, Mizellen und Liposome.^[86, 189] Sie bestehen aus einer polaren Gruppe und einer unpolaren Kohlenwasserstoffkette. Beispielsweise bestehen Mikroemulsionen aus zwei, in den verwendeten Konzentrationen nicht miteinander mischbaren Flüssigkeiten und mindestens einem Tensid. In definierten Lösungsmitteln formen sich kleine Reaktionsräume, in denen Keimbildung und kontrolliertes Partikelwachstum möglich sind. Die Größe der Nanoreaktoren bestimmt die Partikelgröße und gleichzeitig wird die Agglomeration der Nanopartikel verhindert. Mikroemulsionsverfahren werden insbesondere zur Herstellung von Nanopartikeln mit bestimmten Funktionen für Pharmazeutika und Kosmetika eingesetzt.^[86, 190]

Ein weiteres nasschemisches Verfahren zur Herstellung poröser Nanomaterialien, keramisch nanostrukturierter Polymere und Beschichtungen sowie oxidischer Nanopartikel sind sogenannte Sol-Gel-Synthesen.^[86, 190] Sie dienen zur Herstellung eines Gels aus pulverförmigen Stoffen. Die Synthese läuft unter relativ milden Bedingungen und niedrigen Temperaturen ab. Die Dispersionen fester Partikel im, fein verteilt in Wasser oder organischen Lösungs- mitteln, werden als „Sole“ bezeichnet.^[86] Beim Sol-Gel-Verfahren

erfolgt die Herstellung bzw. Abscheidung der Materialien von einem flüssigen Sol-Zustand aus, der durch eine Sol-Gel-Transformation in einen festen Gel-Zustand überführt wird. Während dieser Umwandlung kommt es zu einer dreidimensionalen Vernetzung der Nanopartikel im Lösungsmittel, wodurch das Gel Festkörpereigenschaften erhält. Die Gele lassen sich anschließend durch eine kontrollierte Wärmebehandlung unter Luft beispielsweise in einen keramischen Werkstoff umformen. Aus einer Lösung eines Alkoxids wird durch die Zugabe organischer Stoffe im Sol-Gel Prozess eine organometallische Verbindung hergestellt. Der pH-Wert der Lösung wird mit einer Säure oder Base variiert, die auch als Katalysator die Umsetzung des Alkoxids auslöst.^[86] Die ablaufenden Reaktionen sind Hydrolyse und anschließende Kondensation und Polymerisation. Die Partikel wachsen bei fortlaufender Reaktion, bis ein Gel entsteht. Aufgrund einer hohen Porosität des Netzwerkes haben die Partikel meist eine große Oberfläche. Der Ablauf der Hydrolyse- und Polykondensationsreaktionen hängt dabei von der Zusammensetzung der Ausgangslösung, der Art und Menge des Katalysators, der Temperatur sowie der Reaktor- und Mischgeometrie ab.^[190] Die alkoxidische Ausgangslösung des Sol-Gel-Prozesses kann für eine Oberflächenbeschichtung eingesetzt werden. Nach der Benetzung der Oberfläche erfolgt durch die Gel-Bildung der Aufbau des porösen Netzwerkes, was zu Schichtdicken von 50–500 nm führen kann. Dickere Schichten können durch wiederholtes Benetzen und Trocknen realisiert werden. In allen Anwendungsbeispielen schließt sich an die Bildung des Gels ein Trocknungsschritt an.^[86, 190]

Ein großer Vorteil des Sol-Gel-Verfahrens liegt in der Verarbeitbarkeit der Sole und Gele, je nach Behandlungsschritt zu Pulvern, Fasern, Keramiken und Beschichtungen sowie auch zu hochporösen Nanomaterialien. Durch Füllung dieser Poren während oder nach der Gelherstellung lassen sich außerdem Verbundwerkstoffe herstellen. Durch die tiefe Prozesstemperatur können außerdem Wirkstoffe im Laufe des Syntheseschrittes in das Gel eingebettet werden, die später kontrolliert wieder freigesetzt werden können.^[86] Die Nachteile des Sol-Gel-Prozesses liegen bei den schwer zu kontrollierenden Synthese- und Trocknungsschritten, die ein Scale-up des Verfahrens erschweren. Zusätzlich können organische Verunreinigungen im Gel verbleiben. Durch die meist notwendigen Reinigungsschritte, die Trocknung und die thermische Nachbehandlung kommt es zu einem im Vergleich zur Gasphasensynthese aufwändigen Herstellungsprozess.^[86]

Ein Beispiel für eine nasschemische Synthese von Kern-Schale-Nanopartikel ist Verwendung von Silica als Schalenmaterial Kernen. Dabei wird nicht nur das Kernpartikel geschützt, sondern auch der direkte Kontakt der Kerne mit zusätzlichen an der Silica-Oberfläche gebundenen Molekülen verhindert. Eine direkte Anbindung von beispielsweise Farbstoffmolekülen an magnetische Partikel führt oft zur Lumineszenzauslöschung, was eine Silica-Schale erfolgreich unterbindet.^[191] Weitere Vorteile einer Silica-Schale sind die

Stabilität unter wässrigen Bedingungen (bei niedrigem pH-Wert), eine sehr gute Oberflächenmodifizierbarkeit sowie eine Kontrolle der Wechselwirkungen zwischen Teilchen über die Variation der Schichtdicke.^[69] Für den Aufbau der Silica-Schale werden hauptsächlich der Stöber-Prozess (Abbildung 2.13) und Sol-Gel-Prozesse angewendet.^[192-196]

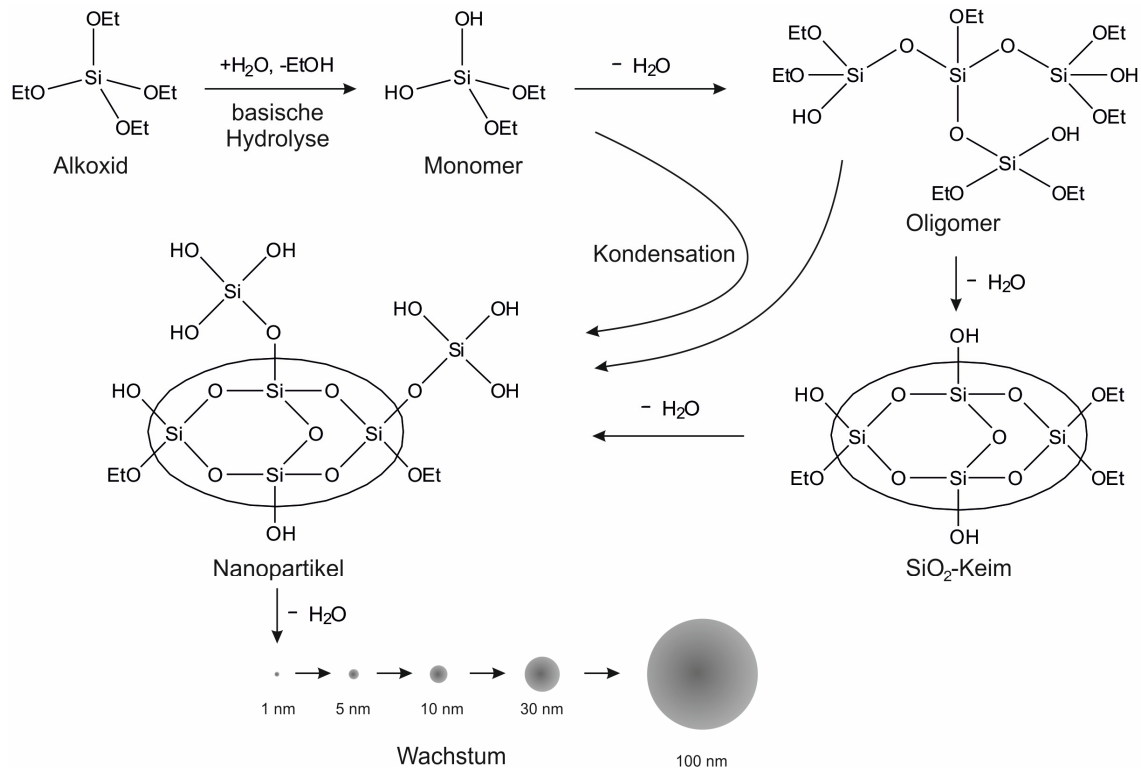


Abbildung 2.13. Reaktionsschema der basischen Hydrolyse beim Stöber-Prozess mit anschließendem Nanopartikelwachstum am Beispiel von Tetraethoxysilan (TEOS).^[195]

Der Stöber-Prozess verläuft über eine basen-katalysierte Hydrolyse von Alkoxysilanen (z.B. Tetraethoxysilan (TEOS)) zu Orthokieselsäurederivaten. Anschließend erfolgen Kondensationsreaktionen mit konzentriert ablaufenden Kettenwachstums-, Kettenverzweigungs- und Kettenabbruchsreaktionen über oligomere Zwischenstufen zu amorph, quervernetzten Polysiloxannetzwerken. Beim Stöber-Prozess entscheidet der Anteil von Ammoniak und Wasser im Reaktionsgemisch und die Art des als Lösungsmittel eingesetzten Alkohols hauptsächlich über die entstehende Schichtdicke.^[195]

Bei einer Silica-Beschichtung magnetischer Nanopartikel mit dem Stöber-Prozess lagern sich durch die intermolekulare Kondensation diese Netzwerke auf dem magnetischen Nanopartikel ab. Nachfolgend kondensieren diese Keime auf der Nanopartikeloberfläche zu einem vollständig geschlossenen Netzwerk um das Partikel (Abbildung 2.14).

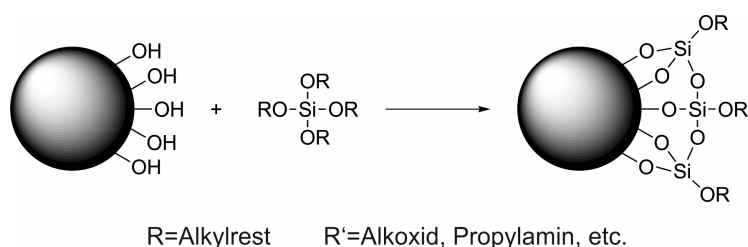


Abbildung 2.14. Bildung einer Silica-Schale um einen magnetischen Nanopartikel. Durch Kondensationsreaktionen lagern sich Silica-Netzwerke auf dem magnetischen Nanopartikel ab.

Aufgrund der hohen Affinität von Silica zur Eisenoxidoberfläche kann durch Abstimmung der Reaktionsbedingungen eine kontrollierte Schichtdicke der Schale erreicht werden.^[193] Dabei ist eine schnelle Keimbildung und ein langsames Wachstum optimal. Dies kann durch eine kurzzeitige Übersättigung der Kieselsäureoligomere erreicht werden. Im Anschluss erfolgt die Nukleation und ein langsames Wachsen der Hülle. Alternative Syntheserouten für gleichförmige Silica-Hüllen mit einer kontrollierten Schichtdicke sind Mikroemulsionstechniken.^[189, 197] Die inverse Mikroemulsionstechnik, die eine Dispersion von Wasser in hydrophoben Lösungsmitteln darstellt, ermöglicht ebenfalls die Beschichtung magnetischer Nanoteilchen mit einer Silica-Hülle. Grund dafür ist die Löslichkeit der magnetischen Nanopartikel als auch der Silicaprecursoren in hydrophoben Lösungsmitteln wie Toluol. Durch Präzipitation der mit Silica beschichteten magnetischen Nanopartikel aus der organischen Phase erfolgt eine Limitierung des Schalenwachstums auf der Partikeloberfläche. Dies verhindert außerdem die interpartikuläre Quervernetzung und ermöglicht den Zugang zu wasserdispergierbaren, Silica-beschichteten magnetischen Nanopartikeln.

Die Oberfläche der entstehenden mit Silica beschichteten, magnetischen Nanopartikel ist hydrophil und kann leicht mit anderen funktionellen Gruppen entsprechend modifiziert werden.^[198] Dadurch können die Partikel beispielsweise als Biomarker, bei der Einschleusung von Wirkstoffen in Zellen (Drug targeting), bei Arzneistoffformulierungen etc. eingesetzt werden.^[69] Kobayashi *et al.* gelang die Synthese Amino-funktionalisierter Kern-Schale-Partikel durch die Verwendung von 3-Aminopropyltrimethoxysilan (APTMS) neben TEOS als Prekursor.^[166] Die funktionelle Gruppe kann dann als Bindungsstelle für Moleküle (Katalysatoren, Wirkstoffe) dienen, die dann die Anwendung der Partikel bestimmen. Salgueiriño-Maceira *et al.* beschrieben die Synthese von Eisenoxid-Nanopartikeln mit einer Silica-Schale und anschließender Funktionalisierung durch Gold-Nanopartikel.^[199] Die in Wasser dispergierten, magnetischen Nanopartikel wurden mit Hilfe des Stöber-Prozesses mit einer Silica-Schale umhüllt. Die negativ geladene Silica-Oberfläche wurde darauffolgend sequenziell durch elektrostatische Wechselwirkungen mit positiv-negativ-positiv geladenen Polyelektrolytpolymeren beschichtet. Anschließend wurden Citrat-stabilisierte Gold-Nanopartikel ($\varnothing=15$ nm) adsorbiert. Werden diese Nanopartikel als Keime verwendet, so

bildet sich durch Reduktion von HAuCl_4 -Aliquoten mit Ascorbinsäure in wässriger Lösung eine Gold-Schale um die magnetischen Silica-Kugeln. Diese zeigen dann eine starke Resonanzabsorption im sichtbaren und Nah-Infrarotbereich und können durch ein externes magnetisches Feld gesteuert werden.^[69, 199]

2.3 Mikrowellenunterstützte Synthesen

2.3.1 Grundlagen

Bei Mikrowellenstrahlung handelt es sich um elektromagnetische Strahlung im Frequenzbereich zwischen 0.3 und 300 GHz. Die bei chemischen Synthesen eingesetzten Mikrowellenöfen arbeiten wie die haushaltsüblichen Geräte bei 2.45 GHz. Mikrowellenbeschleunigte Synthesen sind seit den ersten Publikationen im Jahr 1986 von Gedye *et al.* und Giguere *et al.*^[200-201] von stetig steigendem Interesse.^[202] Dabei können viele chemische Umwandlungen erfolgreich und oft mit wesentlich erhöhter Reaktionsgeschwindigkeit durchgeführt werden.^[203-209] Das kontrollierte Erhitzen mit Mikrowellenstrahlung, vor allem in der Variante in geschlossenen Reaktionsgefäßen, bietet viele Vorteile.^[210] Die Reaktionszeiten werden beispielsweise häufig drastisch gekürzt und die Ausbeuten erhöht. Beispielsweise konnte die Reaktionszeit der Veresterung von Benzoesäure mit Methanol von 8 Stunden auf lediglich 5 Minuten gesenkt werden und das bei sogar leicht erhöhter Ausbeute.^[200] Die Wahl des Lösungsmittels ist nicht auf den Siedepunkt beschränkt, sondern hängt von den dielektrischen Eigenschaften desselben ab. Diese lassen sich zum Beispiel durch die Zugabe sehr polarer Verbindungen wie ionischer Flüssigkeiten einstellen. Durch die Steuerung von Druck und Temperatur in modernen Mikrowellen-Syntheseautomaten können die Reaktionsparameter optimal kontrolliert werden, was die Reproduzierbarkeit immens steigert. Der Gesamtvorgang des Erhitzens ist dabei wesentlich energieeffizienter als das klassische Erhitzen in einem Ölbad.^[210-211] Während die Mikrowellenbestrahlung gleichzeitig die Temperatur im Gesamtvolumen erhöht, wird im Ölbad zuerst der Teil des Reaktionsgemisches erhitzt, der sich im Kontakt mit der Gefäßwand befindet (Abb. 2.15). Das konventionelle Erhitzen ist von der thermischen Leitfähigkeit der Materialien und von Konvektionsströmen abhängig. Daraus resultieren eine höhere Temperatur an der Reaktionswand und damit ein Temperaturgradient in der Reaktionslösung. Der Vorteil beim Mikrowellen-unterstützten Heizen liegt in der gleichmäßigen Temperaturerhöhung des gesamten Flüssigkeitsvolumens. Der Temperaturgradient verläuft demnach umgekehrt als beim konventionellen thermischen Erhitzen.

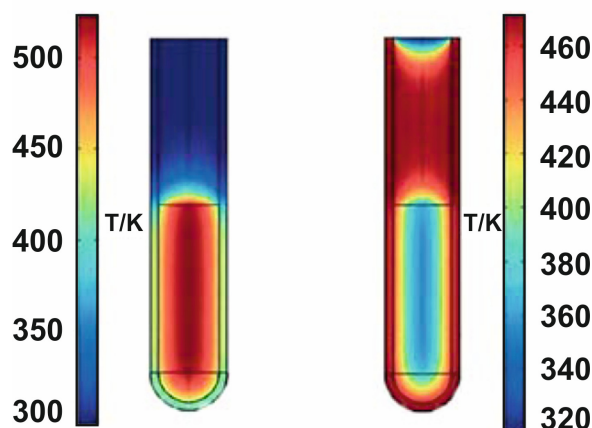


Abbildung 2.15. Temperaturprofile (Finite-Elemente-Modeling) beim Erhitzen eines Glasreaktors nach 1 min mit Mikrowellenbestrahlung (links) und im Ölbad (rechts).^[210-211]

Seit den ersten Berichten über mikrowellenunterstützte Synthesen gab es viele Interpretationsmodelle darüber, warum Mikrowellenstrahlung in der Lage ist, chemische Reaktionen zu verbessern oder zu beeinflussen. Dabei wird diskutiert, ob es sich bei den beobachteten Effekten in allen Fällen um rein thermische/kinetische Phänomene handelt, welche durch dielektrisches Erhitzen mithilfe von Mikrowellen ein schnelles Aufheizen und hohe Volumenreaktionstemperaturen bewirken, oder ob einige Effekte spezifischen oder nicht-thermischen Mikrowelleneffekten zuzuordnen sind.^[210, 212-218] Heute vertritt ein Großteil der Wissenschaftler die Meinung, dass es sich bei den beobachteten Effekten in mikrowellen-unterstützten Reaktionen in den meisten Fällen um thermische Phänomene handelt.^[214, 219-221] Die Energie der Mikrowellenphotonen ist in diesem Frequenzbereich mit 0.0016 eV bei weitem zu niedrig, um direkt molekulare Bindungen zu spalten. Deshalb können Mikrowellen keine chemischen Reaktionen durch direkte Absorption von elektromagnetischer Energie induzieren.^[210, 214-215] Die Beschleunigung von chemischen Reaktionen beruht auf der effizienten Energieübertragung auf Reaktionsgemische. Bei diesem sogenannten dielektrischen Erhitzen absorbiert ein Stoff Mikrowellenenergie und wandelt sie in Wärme um. Die Erwärmung erfolgt dabei hauptsächlich durch die dipolare Polarisierung und Ionenleitung, die durch die elektrische Komponente des elektromagnetischen Felds hervorgerufen werden.^[210] Die Dipole oder Ionen der Probe richten sich beim Bestrahlen mit Frequenzen im Mikrowellenbereich im angelegten Feld aus. Da dieses Feld oszilliert, versucht das Dipol- oder Ionenfeld sich im wechselnden elektrischen Feld neu auszurichten. Dabei wird durch Molekularreibung und Dielektrizitätsverlust Energie in Form von Wärme frei. Der Moleküldipol hat zwar genügend Zeit, sich im Feld auszurichten, kann aber dem wechselnden Feld nicht exakt folgen. Wäre dies nicht der Fall, würde keine Erwärmung stattfinden.^[222-228]

Die Aufheizcharakteristik eines Stoffs bei Mikrowellenbestrahlung hängt von dessen dielektrischen Eigenschaften ab. Das Hauptcharakteristikum bei Lösungsmitteln ist der sogenannte Verlustfaktor $\tan \delta$. Dieser berechnet sich aus dem Quotienten des dielektrischen Verlustes ε'' , also dem Maß der Umwandlung elektromagnetischer Strahlung in Wärme und der Dielektrizitätskonstante ε' :

$$\tan \delta = \frac{\varepsilon''}{\varepsilon'} \quad (7)$$

Dabei werden Lösungsmittel als stark, mittel und schwach Mikrowellen-absorbierend eingestuft, je nach Höhe des Verlustfaktors $\tan \delta$.^[210] Für ein effizientes Heizen sollte ein Reaktionsmedium einen hohen $\tan \delta$ -Wert besitzen ($\tan \delta > 0.5$). Beispiele dafür sind einfache Alkohole (Methanol, Ethanol) und Polyole (Ethylenglykol, Triethylenglykol, Tetraethylenglykol).

Durch den Einsatz moderner Mikrowellenreaktoren, welche eine ausgezeichnete Steuerung und exakte Bestimmung der Reaktionstemperatur und des Drucks im Reaktionsgefäß ermöglichen, können die Vorteile der Mikrowellenstrahlung bei chemischen Synthesen noch gezielter genutzt werden. Durch Verwendung von geschlossenen Gefäßen können Reaktionsmischungen sehr schnell auf Temperaturen weit über dem Siedepunkt des Lösungsmittels unter unterschiedlichen Bedingungen (bis zu 300 °C/ bis zu 30 bar) erhitzt werden. Dadurch werden höhere Temperaturen und ein wesentlich schnelleres Aufheizen als bei herkömmlichen Rückflussexperimenten erreicht. Dies kann in manchen Fällen zu veränderten Produktverteilungen führen oder sogar völlig neue Reaktionswege eröffnen, die bei niedrigeren Temperaturen nicht zugänglich sind.^[214, 219-221, 229-230] Die teilweise höhere Reinheit von Mikrowellen-unterstützten Synthesen lässt sich dadurch erklären, dass die Reaktionen bei einer optimierten Reaktionstemperatur durchgeführt werden und somit die Bildung von Nebenprodukten eingeschränkt wird.^[214, 219-221] Durch neue Entwicklungen in der Automatisierung ist sogar eine Echtzeitkontrolle von Reaktionen in situ durch beispielsweise Raman- oder UV-Spektroskopie möglich.^[231-232]

2.3.2 Synthese von Nanopartikeln mit Mikrowellenstrahlung

Der Einsatz von Mikrowellenstrahlung als nichtklassische Energiequelle hat sich mittlerweile zu einer etablierten Methode entwickelt, die in Forschung und Industrie stark genutzt wird. Neben der Optimierung organischer Reaktionen wird Mikrowellenstrahlung in vielen verschiedenen Synthesen eingesetzt.^[213, 215, 217-218] Mittlerweile gibt es sogar vollautomatisierte Systeme für den Einsatz in der Festphasenpeptidsynthese, die die Herstellung schwer zugänglicher Peptide erheblich erleichtern.^[233-235] Ein stetig wachsendes Einsatzfeld ist die Mikrowellen-unterstützte Synthese kolloidaler anorganischer Nanokristalle. Allgemein werden diese Kolloide durch Reaktion metallorganischer Verbindungen bzw.

Metall-Ligand-Komplexen in einem flüssigen, auf eine geeignete Temperatur erhitztes Medium synthetisiert.^[236-237] Oft werden dabei stabilisierende organische Verbindungen, zum Beispiel Liganden, Tenside, weiche Template oder koordinierende Lösungsmittel eingesetzt, die das Kolloid-Wachstum regulieren können.^[236-243] Im Verlauf der Synthese bilden sich hochreaktive Intermediate, die nach dem Passieren der kritischen Übersättigungsschwelle eine Nukleation der Nanokristalle einleiten, was letztendlich zum Wachstum der Partikel führt. Nach der Synthese sind Nanokristalle einzeln unterscheidbare Partikel, die aus einer ein- oder polykristallinen Domäne bestehen. Deren chemische Zusammensetzung und Geometrie bestimmen letztendlich die charakteristischen Eigenschaften der jeweiligen Spezies. Je nach Synthesevariante können die Partikel auch eine Monolage aus eng an der Oberfläche gebundenen Stabilisator-Molekülen besitzen, die Löslichkeit, Stabilität, aber auch Wechselwirkungen mit der Umgebung beeinflussen können.^[237, 240-243]

In der Praxis haben sich nasschemische Ansätze als effiziente Wege zur Synthese von Kolloiden erwiesen. Dabei gewinnt die Mikrowellenstrahlung zur Realisierung einer kontrollierten, thermischen Aktivierung der Systeme eine zunehmende Beachtung. Beispielsweise konnte gezeigt werden, dass im Vergleich zum herkömmlichen Konvektionserhitzen die Nutzung von Mikrowellenstrahlung eine bessere Steuerung der Partikelbildung nach sich zieht, wie auch zur Verbesserung der Produktqualität und Ausbeute beiträgt.^[236, 244-245] Bilecka *et al.* verwendeten als Lösungsmittel Benzylalkohol, der mit unterschiedlichen Metallacetat- und Metallacetonatprecursoren versetzt wurde. In sehr kurzen Mikrowellen-unterstützten Synthesezeiten zwischen 0.5 und 2 Minuten wurden verschiedene nanokristalline Materialien erhalten (ZnO, CoO, Mn_xO_y, Fe₃O₄, BaTiO₃).^[246] Die Autoren schließen, dass diese Reaktionen über einen zweistufigen Reaktionsmechanismus verlaufen, hier am Beispiel der Magnetitbildung aus Eisen(III)-Acetylacetonat gezeigt:

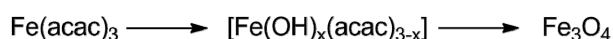


Abbildung 2.16. Bildung von Magnetit aus Eisen(III)-Acetylacetonat.^[246]

Bei einer Solvolysereaktion greift der Benzylalkohol nucleophil an einer Carbonylgruppe des Acetylacetonatliganden an (Abbildung 2.17: 1).

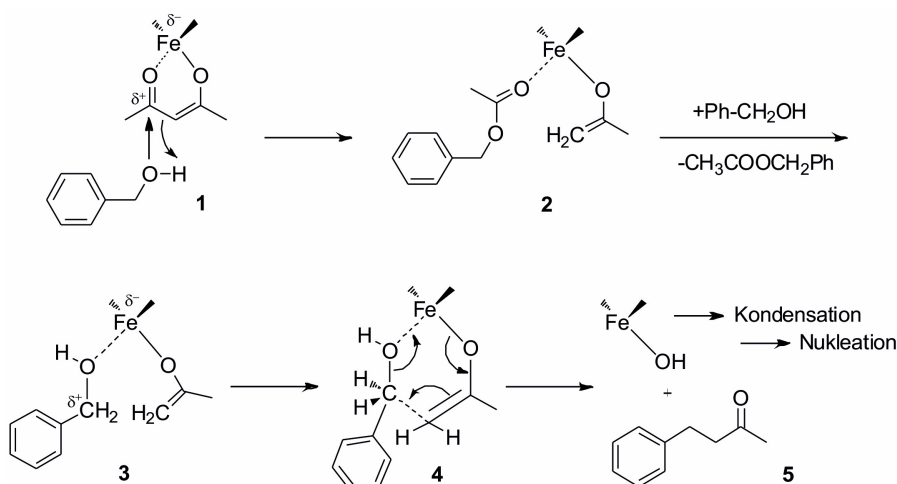


Abbildung 2.17. Reaktion von Eisen(III)-Acetylacetonat in Gegenwart von Benzylalkohol beginnend mit einer Solvolysereaktion des Acetylacetonat-Liganden. In anschließenden Kondensationsreaktionen wird die Nukleation eingeleitet.^[247]

Bei dieser Alkoholyse entstehen aus dem Acetylacetonat am Eisen(III)-Komplex Benzylacetat und ein Enolat-Ligand (**2**). Anschließend erfolgt ein Ligandenaustausch, indem ein weiteres Benzylalkohol-Molekül ans Eisen(III)-Zentrum koordiniert und dabei das gebildete Benzylacetat freigesetzt wird. Der Enolat-Ligand greift nun den Benzylalkohol an (**3**, **4**) und bildet über einen zyklischen Übergangszustand 4-Phenyl-2-butanon aus, welches freigesetzt wird (**5**). Das ebenfalls gebildete Hydroxy-Eisen(III)-Acetylacetonat-Intermediat (**5**) bindet über die entstandene Hydroxylfunktion in folgenden Kondensationsreaktionen an weitere Eisen-Zentren, was letztendlich zu einer Nukleation von Magnetitclustern führt.^[247] Ausgehend von ausschließlich Eisen(III)-Zentren im Precursor muss ein Drittel derselben zu Eisen(II)-Ionen reduziert werden, um phasenreines Magnetit zu erhalten. Es wird angenommen, dass sich aus 4-Phenyl-2-butanon in einer dehydrierenden Oxidationsreaktion 4-Phenyl-3-buten-2-on bildet, was gleichzeitig 2 Eisen(III)-Zentren reduziert. Das heißt, dass in dieser Reaktion der Benzylalkohol gleichzeitig als Lösungsmittel und Stabilisator agiert, aber auch zusätzlich die partielle Reduktion des Eisens bewirkt, was sich entscheidend auf die richtige Stöchiometrie des Eisen- zu Sauerstoffverhältnisses auswirkt.^[247] Durch das schnelle Erhitzen mit Hilfe von Mikrowellenstrahlung wird die Nukleation beschleunigt und das Wachstum der Nanopartikel stark begünstigt. Ein Vorteil für die Reaktion ist außerdem das rasche Auflösen des Präkursors (Ausgangsprodukt) in Benzylalkohol, woraus eine erhöhte Produktion des genannten Intermediats folgt, was eine schnelle Nukleation fördert. Gleichzeitig wird bei diesen sehr hohen Temperaturen ein schnelleres Kristallwachstum begünstigt, was letztendlich zu hydrophoben Nanopartikeln führt, die in vielen organischen Lösungsmitteln dispergiert werden können.^[248]

3. Die Entwicklung neuer Trägermaterialien

3.1 Konzept

Seit der Einführung der SPPS^[1] wurden verschiedene Trägermaterialien entwickelt, zum Beispiel zahlreiche Varianten an quervernetzten Polystyrol-Harzen oder auch oberflächenmodifizierte Glaskügelchen. Ein Vergleich der Struktur von Polystyrol-basierten Teilchen mit festen, oberflächenmodifizierten Glaskügelchen zeigt die Vor- und Nachteile der jeweiligen Teilchenart auf (Abbildung 3.1).

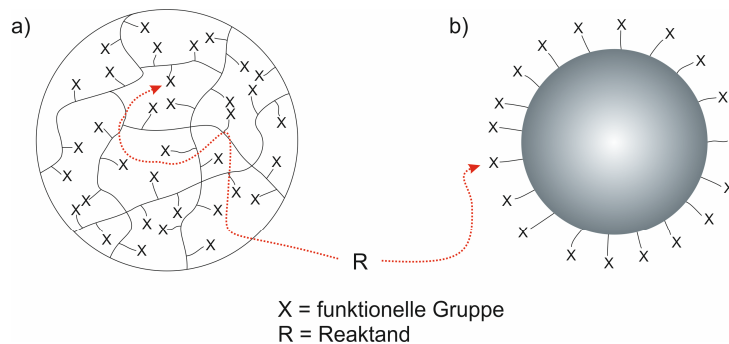


Abbildung 3.1. Vergleich der Beladung und Zugänglichkeit funktioneller Gruppen bei: a) einem Polystyrol-basiertem Teilchen (hohe Beladung, aber diffusionslimitierte Reaktionen), b) einem soliden, oberflächenmodifizierten Glaskügelchen (gute Zugänglichkeit funktioneller Gruppen, aber geringe Beladung).

Der Vorteil von Polystyrol-basierten Harzen ist ein hoher Beladungsgrad an funktionellen Gruppen, allerdings ist es nötig, das Material für eine jeweilige Zeitspanne vor Synthesebeginn im jeweiligen Lösungsmittel Quellen zu lassen. Diese Zeitspanne kann je nach Material und Lösungsmittel zwischen 15 und 180 min betragen.^[249] Dabei steigt das Volumen der Teilchen um den drei- bis zehnfachen Wert. Außerdem ist die Zugänglichkeit der funktionellen Gruppen limitiert, da Reaktanden erst durch die Netzwerkstruktur des Polymers zum jeweiligen Reaktionsort diffundieren müssen. Im Gegensatz dazu haben solide Partikel im gleichen Größenbereich eine bessere Zugänglichkeit der funktionellen Gruppen, da diese nahezu direkt an der Oberfläche präsentiert werden. Der große Nachteil ist hier der geringe Beladungsgrad, welcher durch die geringere Oberfläche im Vergleich zu quervernetzten Harzen bedingt wird.

Dieses Problem kann umgangen werden, indem das Prinzip der soliden Kügelchen auf ein kolloidales Trägermaterial übertragen wird. Dessen Oberfläche ist bei einem durchschnittlichen Partikeldurchmesser von beispielsweise 70-100 nm bis zu $1.1 \cdot 10^5$ mal größer als bei soliden Partikeln mit einem Durchmesser von 90-400 μm . Dies führt zwangsläufig auch zu einem wesentlich höheren Beladungswert des Trägermaterials. Dazu

können die Partikel direkt ohne zeitaufwändigen Quellvorgang in der Synthese eingesetzt werden.

Ziel dieser Arbeit ist die Entwicklung superparamagnetischer Kern-Schale-Nanopartikel und deren Einsatz als quasi lösliche Trägermaterialien bei der festphasengebundenen Synthese von Peptiden, Polymer-Peptid-Konjugaten und Oligonucleotiden. Mit der stark verringerten Größe der einzelnen Teilchen ist eine Verwendung der etablierten Filtertechniken allerdings nicht mehr möglich. Die Verwendung von Filtertechniken während der Synthese erfordert beim Einsatz von Filtern mit einer Porengröße von 60-100 μm eine Teilchengröße des Trägermaterials von 90-400 μm . Die geplante Partikelgröße von 70-100 nm wäre zu klein für verfügbare Filtermaterialien. Die vorgestellten Kern-Schale-Nanopartikel bieten eine deshalb gute Möglichkeit zur Abtrennung des Trägermaterials vom Lösungsmittel. Bei Verwendung magnetischer Nanopartikel als Kern, umgeben von einer schützenden und gleichzeitig funktionalisierten Schale (Abbildung 3.2), lässt sich das Material schnell und gezielt mittels eines externen Magnetfelds von der flüssigen Phase trennen.

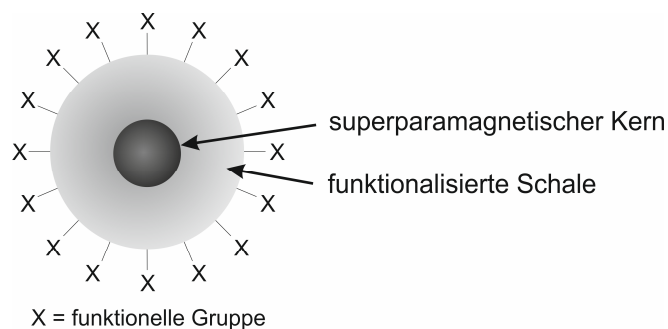


Abbildung 3.2. Schematischer Aufbau des gewünschten Zielprodukts: superparamagnetischer und funktionalisierter Kern-Schale-Nanopartikel als Trägermaterial bei festphasengebundenen Synthesen.

Dabei muss die Schale eine ausreichende Stabilität gegenüber den Synthesebedingungen der SPPS aufweisen, wie auch einen akzeptablen Beladungswert mit funktionellen Gruppen. Auch muss die magnetische Sedimentation der Partikel schnell und vollständig sein. In den folgenden Kapiteln werden die verschiedenen Entwicklungsstufen dieser Kern-Schale-Partikel aufgezeigt und analysiert. Dabei werden die Synthese des superparamagnetischen Kerns, die Bildung der schützenden Schale und die Funktionalisierung der Partikeloberfläche beschrieben. Anschließend wird dieses System auf kommerziell erhältliches, superparamagnetisches Komposit (MagSilica®) übertragen und beide Systeme in verschiedenen festphasengebundenen Synthesen getestet.

3.2 Trägermaterial: Fe₃O₄@SiO₂@NH₂-Nanopartikel

3.2.1 Die Synthese von Fe₃O₄-Nanopartikeln

In dieser Arbeit wurden Fe₃O₄-Partikel verwendet, die auf zwei unterschiedlichen Synthesewegen hergestellt wurden. Beide Syntheseverfahren wurden im Arbeitskreis von Prof. Markus Niederberger an der ETH Zürich entwickelt, mit welchem auch in einem Teil des Projekts direkt kooperiert wurde. Die im Autoklaven hergestellten Fe₃O₄-Nanopartikel wurden in den ersten zwölf Monaten der Promotionsarbeit verwendet und für einen Silica-Schalenaufbau mit Hilfe eines klassischen Stöber-Prozesses eingesetzt. In diesem Zeitraum wurde die mikrowellenunterstützte Synthese von Fe₃O₄-Nanopartikeln im Arbeitskreis von Prof. Niederberger entwickelt^[245] und diese Partikel in ebenfalls mikrowellenunterstützten Stöber-Prozessen eingesetzt. Im Folgenden werden beide Synthesewege vorgestellt, wobei das Hauptaugenmerk auf der Synthese im Mikrowellenreaktor liegen soll.

a) Synthese im Autoklaven (1)

Die Entwicklung eines neuen Trägermaterials wurde zunächst mit Fe₃O₄-Nanopartikeln begonnen, die im Arbeitskreis von Prof. Markus Niederberger* hergestellt und dem Projekt zur Verfügung gestellt wurden.^[250] Die Herstellung der Magnetit-Nanopartikel erfolgte in einem Autoklaven in 2-Pyrrolidon. Dabei wurde unter inerten Bedingungen Eisen(III)acetylacetonat in einen Autoklaven überführt und in 2-Pyrrolidon gelöst. Anschließend erfolgte die Erwärmung des geschlossenen Autoklaven in einem Ofen für 24 Stunden auf 200° C. Das Pyrrolidon fungiert hierbei zum einen als Lösungsmittel, zum anderen auch als Reaktionspartner und Stabilisator.^[250] Anschließend wurden die Kolloide im stabilisierenden Medium Pyrrolidon gelagert und in klassischen Stöber-Prozessen zum Aufbau einer Silica-Schale eingesetzt (Abschnitt 3.2.2). Laut Herstellerangaben lag die Partikelgrößenverteilung zwischen 4 und 20 nm, bei einem mittleren Partikeldurchmesser $d = 10$ nm.^[250] Spätere Transmissionselektronenmikroskopie-Aufnahmen (TEM) (Abbildung 3.3), die mit der automatischen Software ImageJ ausgewertet wurden,^[251] bestätigen eine relativ breite Größenverteilung der Kolloide, wobei die meisten Partikel einen Durchmesser zwischen 4 und 25 nm aufweisen. Der mittlere Durchmesser liegt bei $d = 10$ nm mit einer Standardabweichung von 4 nm. Im Größenbereich unter 15 nm sind die Partikel meist sphärisch, mit zunehmendem Durchmesser wird die Form kantiger. Die Bilder zeigen zudem einzelne Exemplare mit bis zu 50 nm bei Kubus-ähnlicher Form (Abb. 3.3).

* ETH Zürich, Schweiz

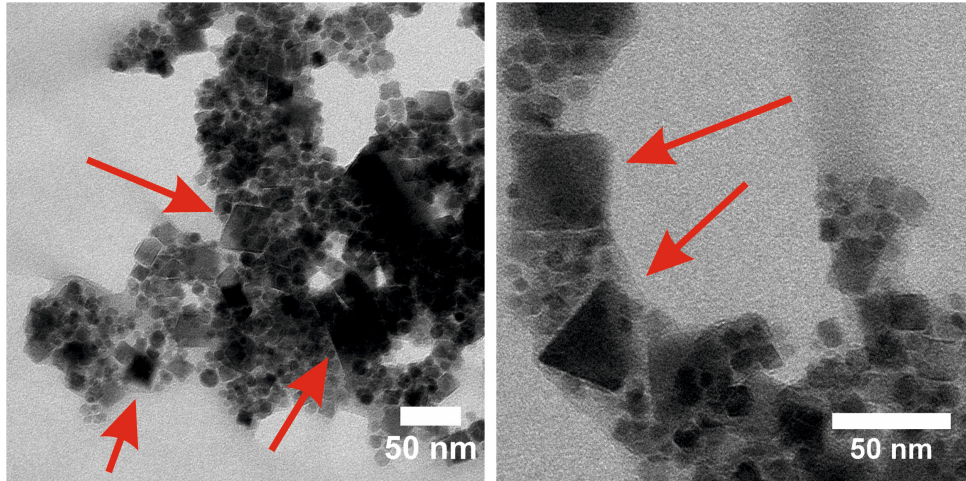


Abbildung 3.3. TEM-Bild von Fe_3O_4 -Partikeln, hergestellt in einem Autoklaven in 2-Pyrrolidon ($d = 10 \pm 4$ nm). Bildung von bis zu 50 nm großen, quaderförmigen Kolloiden.

In diesem Größenbereich geht der erwünschte Superparamagnetismus verloren und ein permanenter Magnetismus tritt auf. Dies wirkt sich negativ auf die kleineren Partikel aus, die von den größeren angezogen werden und somit agglomerieren. Eine gewünschte Kern-Schale-Struktur war deshalb nur schwer zu realisieren, da während der langen Syntheszeiten nach klassischem Stöber-Prozess eine Agglomeration sehr wahrscheinlich ist. Dies bestätigte sich in mit diesen Partikeln durchgeführten Reaktionen für den Aufbau einer Silicaschale und wird in Abschnitt 3.2.2 detaillierter beschrieben. Aufgrund der heterogenen Größenverteilung und den damit auftretenden Agglomerationsproblemen war die Entwicklung von monodispersen Kern-Schale-Partikeln nicht erfolgreich. Deshalb wurde die Entwicklung einer Syntheseroute mit kleinerer Größenverteilung der Partikel angestrebt. Einen neuen Ansatz lieferte eine mikrowellenunterstützte Syntheseroute.^[244-246, 248]

b) Mikrowellenunterstützte Synthese (2)

Die Entwicklung einer optimierten Syntheseroute für Fe_3O_4 -Nanopartikel gelang Mitarbeitern im Arbeitskreis von Prof. Niederberger im Jahre 2010.^[245] Sie konnten dabei eine Synthesevariante in Benzylalkohol modifizieren und eine mikrowellenunterstützte Synthese durchführen. Dabei wird unter inerten Bedingungen 1.0 mmol Eisen(III)acetylacetonat in 5 mL Benzylalkohol gelöst und in einen 10 mL Reaktor mit Rührfisch überführt, der mit einer speziellen Teflon-Kappe verschlossen wird. Anschließend erfolgt die Erhitzung der Lösung in einem Mikrowellenreaktor auf 170 °C mit einer Bestrahlungszeit von 12 Minuten (Leistung: 300 W). Der Bildungsmechanismus der Fe_3O_4 -Nanopartikel in Benzylalkohol verläuft dabei wie in Abbildung 2.17 beschrieben. Während eines einmonatigen Forschungsaufenthaltes im Arbeitskreis von Prof. Niederberger an der ETH Zürich im Rahmen dieser Promotionsarbeit konnte u.a. die Mikrowellensynthese der Magnetit-Partikel nachvollzogen werden. Beim eingesetzten Mikrowellenreaktor handelt es sich um ein Gerät der Discover-Serie (Discover-

SP) der Firma CEM. Die Übertragung auf ein eigenes Gerät dieser Serie war durch Konzentrationsveränderungen des Prekursors im Benzylalkohol erfolgreich. Bei der Synthese wurden 0.4 mmol Eisen(III)acetylacetonat in 4 mL Benzylalkohol gelöst, bei gleichbleibenden Reaktionsbedingungen im Mikrowellenreaktor. Die erhaltenen Partikel wurden bis zu weiteren Verwendung zur Stabilisierung in Benzylalkohol gelagert, da der Benzylalkohol stabilisierend wirkt, was sich vorteilhaft auf ein anschließendes Coating auswirken soll.^[252]

TEM-Aufnahmen, die mit der automatischen Software ImageJ ausgewertet wurden,^[251] zeigen monodisperse, gleichförmige Nanopartikel mit definierter Kristallstruktur und einem mittleren Durchmesser von $d = 6 \text{ nm}$ mit einer Standardabweichung von 1 nm (Abbildung 3.4).

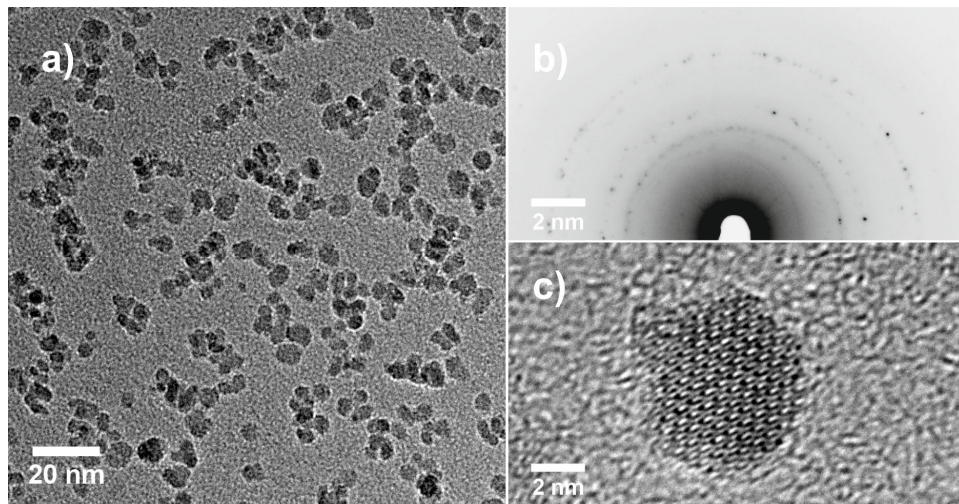


Abbildung 3.4. a) TEM Übersicht der Fe_3O_4 -Partikel ($d = 6 \pm 1 \text{ nm}$), b) Elektronenbeugung und c) HRTEM eines einzelnen Partikels.

Die mögliche Charakterisierung der Fe_3O_4 -Kolloide und auch der späteren Kern-Schale-Partikel mit Hilfe von Rasterkraftmikroskopie (AFM) erwies sich in diesem Größenbereich als eine sehr effiziente Messmethode zur Größenbestimmung der Magnetit-Partikel.[†] Die Rasterkraftmikroskopie ermöglicht eine gleichzeitige Analyse einer enormen Anzahl separierter Partikel und stellt eine genaue Bestimmung der Größenverteilung dar. Das AFM-Bild in der Abbildung 3.5 a) zeigt 182 kleine und recht gut separierte Partikel. Die Größenauswertung jedes einzelnen Partikels erfolgte per Höhenprofilauswertung mit Hilfe des Programms Gwyddion. Die daraus ermittelten Höhenwerte wurden mittels OriginLab 8.5G aufgetragen. Abbildung 3.5 b) zeigt das Histogramm und die Größenverteilung, aus welchen ein mittlerer Durchmesser von 9 nm und eine Standardabweichung von 3 nm erhalten wurde.

[†] Forschungspraktikum Robert Wendt, HU Berlin, März-Juni 2011

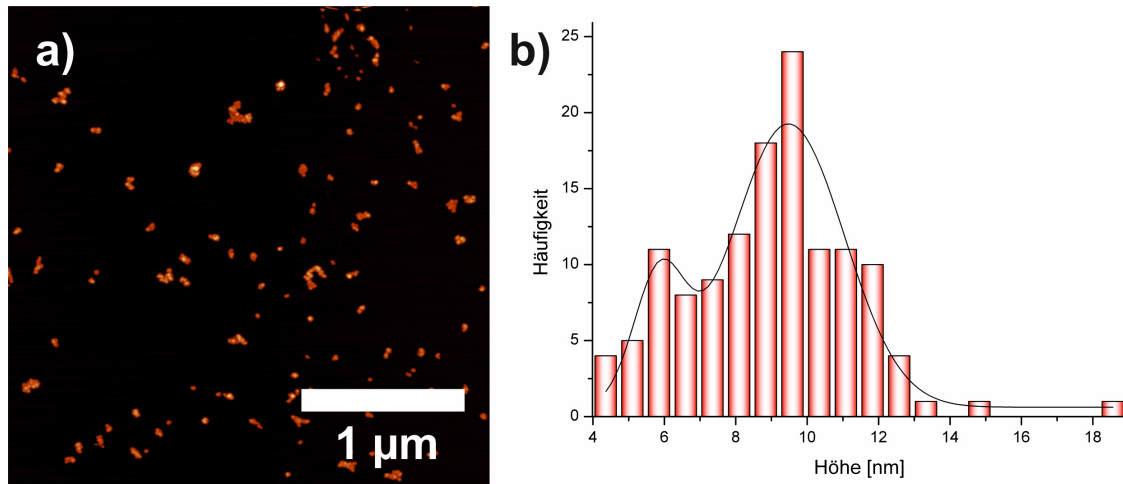


Abbildung 3.5. a) AFM Übersicht der Fe₃O₄-Partikel ($z_{\max}=20$ nm) auf Mica-Scheibe (V1 Quality, 50x75 mm, 0.16 mm Dicke) und b) Höhenverteilung von 182 gemessenen Partikeln.

Röntgenbeugungsmessungen (XRD) ließen auf phasenreines Magnetit schließen (Abbildung 3.6), da alle Reflexe des charakteristischen Kristallgitters identifizierbar waren keine Störsignale vorlagen.

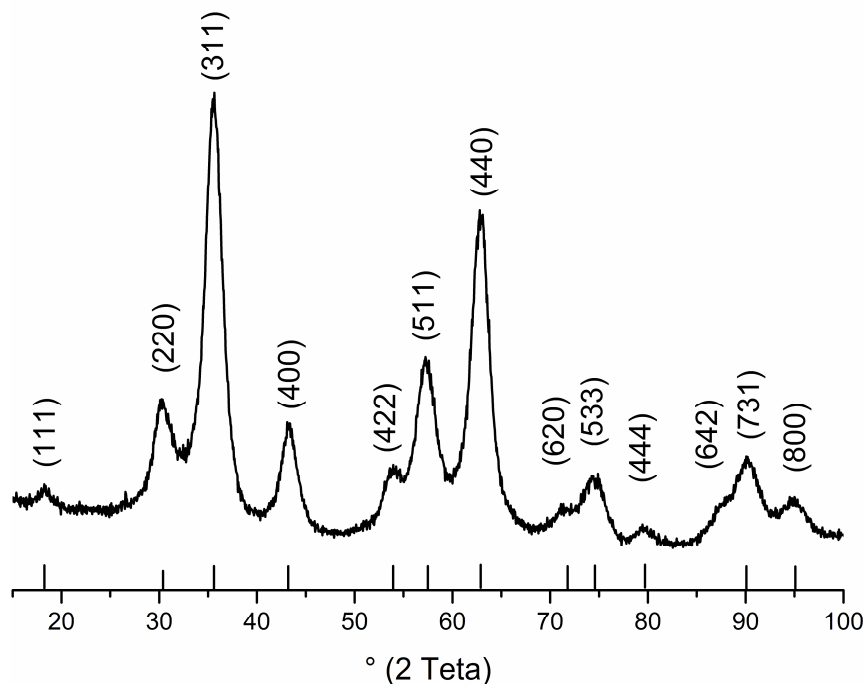


Abbildung 3.6. Röntgen-Diffraktogramm (XRD) von Fe₃O₄ Pulver mit theoretisch erwarteten Magnetit-Signalen (ICDD PDF No. 19-629).

Bei Phasenunreinheit würden im Röntgen-Diffraktogramm (XRD) unerwartete Signale auftreten. Dies kann vor allem aufgrund einer zu hohen Temperatur während der Synthese passieren. Über die Scherrer-Gleichung wurde eine Kristallitgröße von ~9 nm berechnet, was die Messergebnisse der TEM- und AFM-Aufnahmen bestätigt und ein Vorhandensein von monodispersen, phasenreinen Fe₃O₄-Nanopartikeln nahelegt. Aufgrund der ermittelten Größe kann Superparamagnetismus der Fe₃O₄-Nanopartikel erwartet werden. Die Partikel

sollten schnell und reversibel auf ein angelegtes, externes Magnetfeld reagieren. Das heißt: wird das Magnetfeld wieder entfernt, verlieren die Partikel ihre magnetische Ausrichtung und können durch leichtes Schütteln wieder dispergiert werden. Dadurch ist eine einfache Abtrennung vom Lösungsmittel oder Reaktionsgemischen möglich, wodurch sich die hergestellten Fe_3O_4 -Nanopartikel hervorragend als Kern für die erforderliche magnetische Sedimentation der zu entwickelnden Kern-Schale-Partikel eignen.

Dynamische Lichtstreuung (DLS) erwies sich als Methode zur Größenbestimmung der Nanopartikel für dieses System als ungeeignet. Trotz nachgewiesener enger Größenverteilung der Nanopartikel entstehen auch bei der Synthese in der Mikrowelle Einzelpartikel, die größer als 20 nm sind, somit das superparamagnetische Verhalten nicht mehr besitzen und zu Permanentmagneten werden. Eine Agglomeration der Fe_3O_4 -Nanopartikel ist die Folge, wodurch eine konstante Größenverteilung während einer DLS-Messung nicht ermittelt werden kann, da aufgrund der auftretenden Agglomeration die Partikelgröße stetig über den Messzeitraum ansteigt. Gleiche Effekte ließen sich auch bei den Kern-Schale-Partikeln beobachten, sodass auf den Einsatz dieser Analytik verzichtet wurde.

Fourier-Transformations-Infrarot-Spektroskopie (FT-IR) von getrocknetem Fe_3O_4 -Pulver lieferte charakteristische Fe-O-Schwingungssignale im Wellenlängenbereich von ca. 570 cm^{-1} , wobei trotz mehrfacher Waschvorgänge mit Ethanol stets Signale des Benzylalkohols zwischen 3000 und 1000 cm^{-1} zu finden waren. Dies kann durch den stabilisierenden Effekt des Benzylalkohols auf die Fe_3O_4 -Nanopartikel erklärt werden, durch den Moleküle des Benzylalkohols weiter in Wechselwirkung mit der Partikeloberfläche bleiben trotz eines Wechsels auf das Lösungsmittel Ethanol.

Eine Analysemöglichkeit für die Oberflächenbeschaffenheit von Nanopartikeln bietet das Zeta-Potential (auch ζ -Potential). Dies bezeichnet das elektrische Potential an der Abscherschicht eines bewegten Partikels in einer Suspension und gibt Auskunft über elektrische Wechselwirkungskräfte zwischen den dispergierten Teilchen. Oberflächenladungen an suspendierten Partikeln können unterschiedlich verursacht sein. Abbildung 3.7 zeigt prinzipielle Möglichkeiten der Ladungsbildung. Meist liegen Dissoziationsprozesse von funktionellen Oberflächengruppen und/oder Adsorptionsvorgänge an der Oberfläche zugrunde. ^[253]

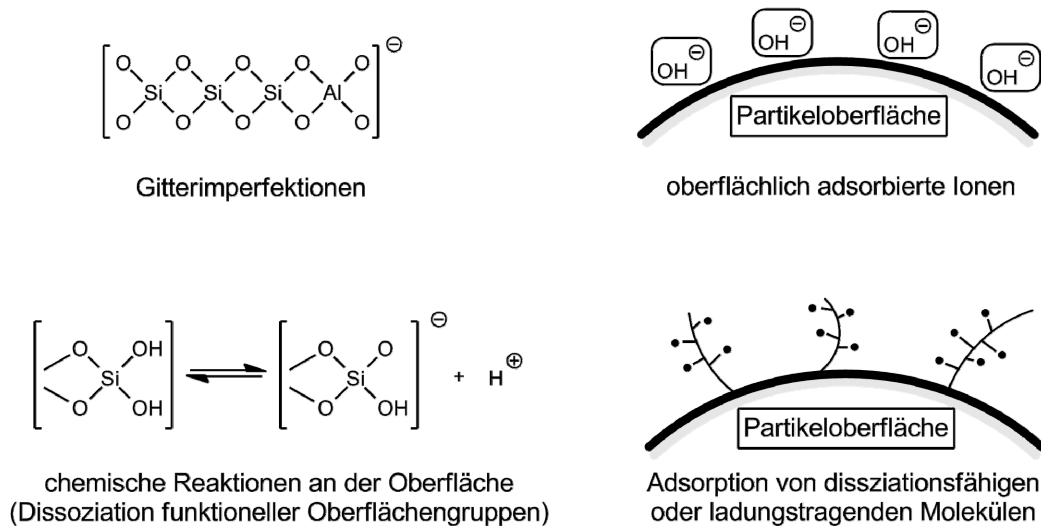


Abbildung 3.7. Möglichkeiten der Ausbildung von Oberflächenladungen.

Im speziellen Fall der Eisenoxide wirken die Eisenatome der Oberfläche als Lewisäuren und koordinieren mit Molekülen, die freie Elektronenpaare donieren. In wässrigen Lösungen koordinieren somit die Eisenoberflächenatome mit Wasser, welches dissoziiert und die Partikeloberfläche mit Hydroxylgruppen funktionalisiert. Diese sind amphoter und können somit als Base und als Säure reagieren.^[254] Daher ergibt sich eine Abhängigkeit des Zeta-Potentials der Nanopartikel als Funktion des pH-Wertes. Für vergleichbare Messwerte sollten deshalb gleiche Bedingungen gewählt werden.^[253] Die Messung des Zeta-Potentials sollte hier vor allem als Methode zur Beobachtung der Oberflächenveränderung nach jedem Reaktionsschritt dienen. Deshalb wurden alle Partikel-Varianten (Magnetit-, Kern-Schale- und funktionalisierte Kern-Schale-Nanopartikel) mehrfach in Ethanol gewaschen und im selbigen dispergiert. Für die im Mikrowellenreaktor hergestellten Fe_3O_4 -Nanopartikel wurde ein Zeta-Potential von $\xi = +44 \text{ mV}$ ermittelt. Solch positive Werte des Zeta-Potentials von Magnetit-Partikel sind bekannt und wurden bereits veröffentlicht.^[255]

Zur Analyse der Zusammensetzung der Fe_3O_4 -Nanopartikel wurden diese mittels Energiedispersiver Röntgenspektroskopie (EDX) untersucht. EDX ist ein Verfahren, bei dem die Atome in der Probe durch einen Elektronenstrahl einheitlicher Energie angeregt werden. Die emittierten Röntgenstrahlen sind für das jeweilige Element spezifisch. Dadurch kann auf eine Elementzusammensetzung der Probe geschlossen werden. Die quantitative Analyse von EDX-Spektren gestaltet sich schwierig, da sie von vielen Faktoren abhängig ist (z. B. Absorption, Fluoreszenz, Topologie und Anregungsenergie). Die Nachweisgrenze liegt für die meisten Elemente mit Ordnungszahl größer zehn bei ungefähr 0,1–0,2 Gew.-%. Für Elemente mit niedrigerer Ordnungszahl wird die Nachweisgrenze allerdings dramatisch schlechter, womit quantitative Aussagen der Analyse aufgrund der oxidischen Zusammensetzung kaum möglich sind und hier lediglich als qualitativer Nachweis genutzt

werden soll. In Tabelle 3.1 (siehe Abschnitt 3.2.3) ist die ermittelte prozentuale Zusammensetzung der Fe_3O_4 -Nanopartikel nach Hintergrundkorrektur mit 38% Sauerstoff und 62% Eisen aufgezeigt. Der erwartete Wert für Fe_3O_4 liegt bei 32% Sauerstoff und 68% Eisen. Der leichte Unterschied der Messwerte zum theoretischen Verhältnis kann durch die erwähnte schlechtere Nachweisgrenze für Sauerstoff erklärt werden.

3.2.2 Die Synthese von $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{SiO}_2$ -Nanopartikeln

Magnetit zeichnet sich allgemein durch eine gute Beständigkeit gegenüber Säuren und Basen aus. Im Laufe einer Standard-Fmoc-Peptidsynthese wird das Trägermaterial jedoch unter anderem mit einer stark basischen Lösungen und stark sauren Lösungen ausgesetzt. Dabei zeigten die Fe_3O_4 -Nanopartikel in durchgeführten Stabilitätstests keine ausreichende chemische Beständigkeit gegenüber den genannten Lösungen. Daher war die Entwicklung einer schützenden Schale, die auch die Möglichkeit zu einer Funktionalisierung bietet, aber gleichzeitig die magnetischen Eigenschaften der Magnetit-Partikel nicht verändert, das nächste Ziel dieser Arbeit. Silica ist als Schalenmaterial bei Kern-Schale-Partikeln weit verbreitet. Daher war das Ziel eine definierte Silica-Schale mit Hilfe des Stöber-Prozesses um die Fe_3O_4 -Kerne zu bilden.

a) Klassische Stöber-Synthese

Die klassische Stöber-Synthese^[195] bietet einen optimalen Ansatz zur Ausbildung einer Silica-Schale um die Fe_3O_4 -Nanopartikel. Wie bereits in Abschnitt 2.1.4 erwähnt, kann aufgrund der hohen Affinität der Eisenoxidoberfläche zu Silica durch Abstimmung der Reaktionsbedingungen eine kontrollierte Schichtdicke der Schale erreicht werden.^[193] Um die erwähnten Probleme der Agglomeration der Fe_3O_4 -Nanopartikel zu umgehen, wurden die Magnetit-Kolloide nach einer Methode von C. Graf^[192, 256] mit Polyvinylpyrrolidon (PVP, 15 kDa) stabilisiert, um die Bildung der Kern-Schale-Partikel in dem anschließenden Stöber-Prozess zu begünstigen (Abbildung 3.8). Das PVP umhüllt die magnetischen Kolloide, schirmt die negativ geladene Oberfläche der Partikel ab und verhindert dadurch zusätzlich unerwünschte Agglomeration. Die Stabilisierung erfolgte in wässriger Lösung von Dopaminhydrochlorid und PVP für 24-36 h bei Raumtemperatur. Das Dopaminhydrochlorid dient dabei als Stabilisierung für die Magnetitpartikel, da es in Wechselwirkung mit den Eisenionen an der Oberfläche tritt und diese abschirmt. Dieser Effekt wurde bei vielen Oberflächenmodifikationen von Metalloxidpartikeln verwendet.^[257] Die Abtrennung der Partikel vom Lösungsmittel erfolgte durch magnetische Sedimentation.

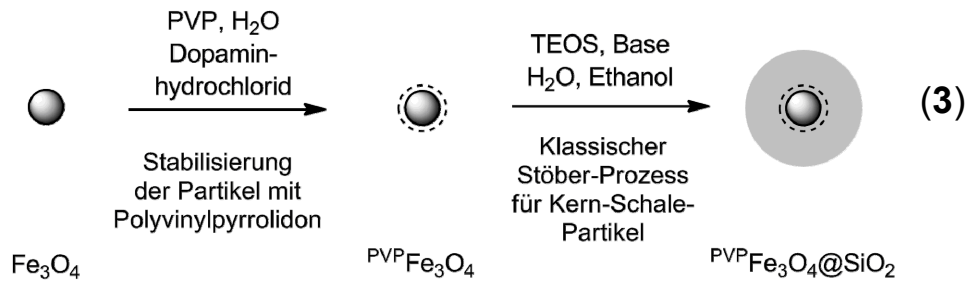


Abbildung 3.8. Synthesestrategie zur Beschichtung von Fe_3O_4 -Nanopartikeln mit Silica mit Hilfe des klassischen Stöber-Prozesses. Die Magnetit-Kolloide werden im ersten Schritt mit Polyvinylpyrrolidon stabilisiert.

Der angewendete Stöber-Prozess verläuft über eine Hydrolyse von Tetraethoxysilan (TEOS) zu Orthokieselsäurederivaten, die anschließend in Kondensationsreaktionen mit konzentriert ablaufenden Kettenwachstums-, Kettenverzweigungs- und Kettenabbruchsreaktionen über oligomere Zwischenstufen amorphe, quervernetzte Polysiloxannetzwerke bilden. Die vom PVP stabilisierten Magnetit-Kolloide werden statistisch in die Silica-Netzwerke eingebaut. Möglich wäre auch eine Kondensation von gebildeten Silica-Keimen an freie Hydroxy-Funktionen auf der Oberfläche der Magnetit-Partikel (Abbildung 3.13), allerdings wird hier angenommen, dass das PVP diese Funktionen hauptsächlich abschirmt und der Einbau der Magnetit-Partikel in die Silica-Struktur statistisch geschieht.

Beim Stöber-Prozess entscheidet die Konzentration von Ammoniak und Wasser im Reaktionsgemisch und die Art des als Lösungsmittel eingesetzten Alkohols hauptsächlich über die entstehende Schichtdicke.^[195] Abbildung 3.9 zeigt die Abhängigkeit der Partikelgröße von den Konzentrationen an Wasser und Ammoniak. Dagegen soll die Konzentration des TEOS keine Auswirkungen auf die entstehende Schichtdicke haben.

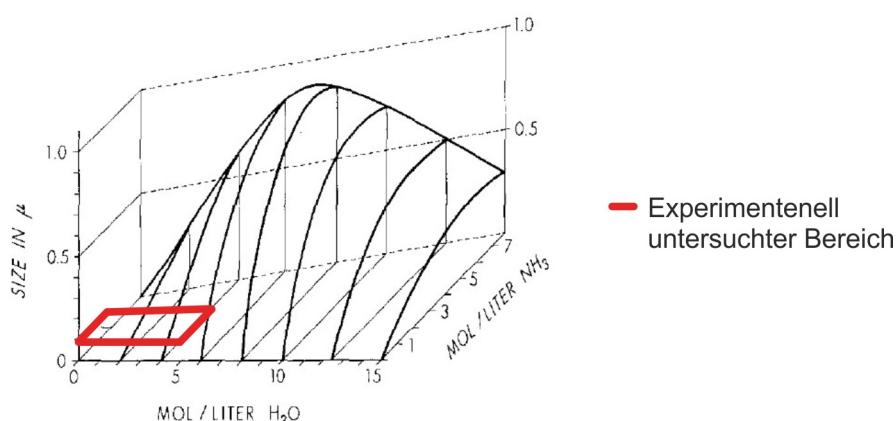


Abbildung 3.9. Abhängigkeit der Partikelgröße von den Konzentrationen an Wasser und Ammoniak. Rot markiert: Experimentell untersuchter Bereich an Konzentration von Ammoniak und Wasser für eine gewünschte Partikelgröße von 70-100 nm im klassischen Stöber-Prozess.^[195]

Es wurde angestrebt durch Beschichtung der $\text{PVP-Fe}_3\text{O}_4$ -Kolloide mit Silica 70-100 nm große Kern-Schale-Partikel zu erhalten. Die in Alkohol dispergierten Partikel wurden mit nach Abbildung 3.9 definierten Mengen von Ammoniak (0.05 bis 3 mol/l) und Wasser (0 bis

5 mol/l) umgesetzt. TEOS wurde in Konzentrationen von 0.01 bis 0.17 M den Systemen zugeführt. Außerdem wurde zwischen den Lösungsmitteln Methanol und Ethanol unterschieden.

Gemäß bereits durchgeführten Untersuchungen ist die Art des eingesetzten Alkohols allerdings nur für die Schnelligkeit der Kondensation entscheidend.^[195] Unter Verwendung der klassischen Stöber-Synthese konnte kein passendes System gefunden werden, dass die Kern-Schale-Partikel in der gewünschten Größe und erwarteten Monodispersität bildet. Bei allen untersuchten Reaktionsbedingungen bildeten sich Aggregate, die eine Größe zwischen 100 nm und 2 µm aufwiesen und gleichzeitig eine Vielzahl von PVPFe_3O_4 -Partikeln einschließen (Abbildung 3.10 a) bis e)).

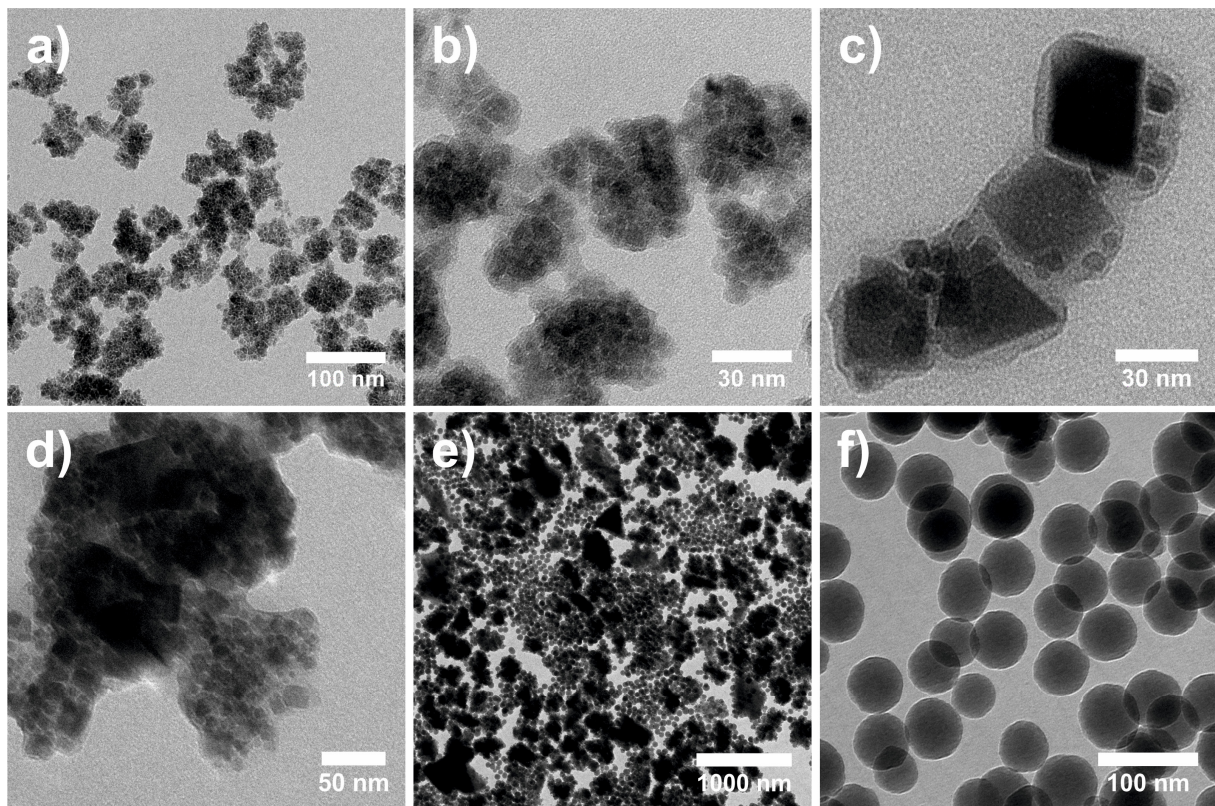


Abbildung 3.10. TEM-Aufnahmen von $\text{PVPFe}_3\text{O}_4@\text{SiO}_2$ -Partikeln nach klassischer Stöber-Synthese, a) bis d) Aggregatbildung durch Agglomeration der Magnetit-Partikel, e) und f) zwischen den Aggregaten befinden sich Silica-Partikel, allerdings ohne PVPFe_3O_4 -Kern.

Ein Grund dafür liegt in der bereits erwähnten Agglomeration der Magnetit-Partikel, um deren Agglomerate sich dann die Silica-Schale ausbildet. Die Stabilisierung mit PVP ist somit absolut unzureichend, aufgrund der langen Reaktionszeiten (ca. 24h) im klassischen Stöber-Prozess. Außerdem bevorteilt die lange Reaktionszeit auch die Aggregation der möglicherweise bereits gebildeten $\text{PVPFe}_3\text{O}_4@\text{SiO}_2$ -Partikel, welche durch den trotz der Schale vorhandenen Permanentmagnetismus der zu großen Magnetit-Partikel agglomerieren. Im Agglomerat reagieren dann die Schalen untereinander in

Kondensationsprozessen zu Aggregaten, die auch in den Mikroskopie-Aufnahmen zu erkennen sind. Aufgrund der Größe dieser Aggregate waren die gebildeten Dispersionen in Ethanol auch nicht lange stabil und sedimentierten teilweise schon nach wenigen Minuten. Abbildung 3.11 zeigt eine Energiedispersive Röntgen-spektroskopische Element-Analyse eines Aggregats der $\text{PVPFe}_3\text{O}_4@\text{SiO}_2$ -Partikel. Es ist zu erkennen, dass das Agglomerat aus Eisen-, Sauerstoff- und Silica-Atome besteht. Somit kann die Bildung einer Silica-Schicht nachgewiesen werden, was auch die vorher gezeigten TEM-Bilder vermuten lassen.

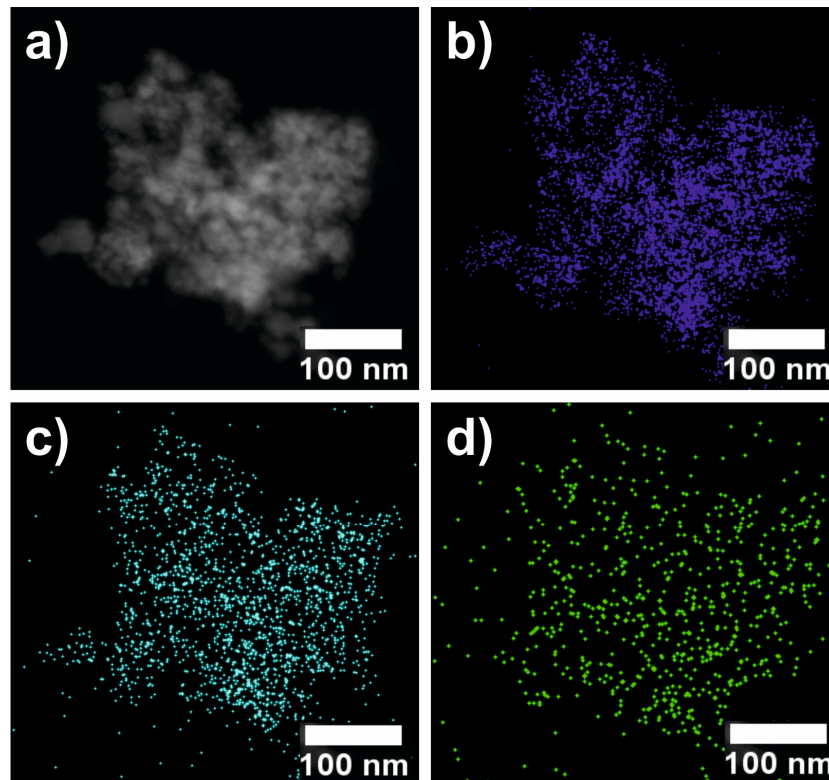


Abbildung 3.11. Energiedispersive Röntgen-spektroskopische Element-Analyse von $\text{PVPFe}_3\text{O}_4@\text{SiO}_2$ -Partikeln nach klassischer Stöber-Synthese: a) STEM-Bild, b) Fe-Mapping, c) O-Mapping und d) Si-Mapping.

Um diese Probleme zu minimieren, wurden verschiedene Lösungsansätze gewählt. Da die Konzentrationsveränderung der Edukte keine Auswirkungen auf die Aggregatbildung zeigte, wurden Optimierungsmöglichkeiten in der Versuchsdurchführung untersucht. Ein Magnetrührer wurde durch ein KPG-Rührwerk ersetzt, um eine Aggregation der magnetischen Partikel am Magnetrührer zu verhindern. Desweiteren wurde der Reaktionskolben während der Synthese in ein Ultraschallbad eingehängt, dass jeweils für eine bestimmte Zeit pro Stunde per Zeitschaltuhr eingeschaltet wurde. Dadurch ergaben sich vor allem Temperaturunterschiede in den Bedingungen, da sich Lösungsmittel bei längerem Ultraschalleinfluss stark erhitzen. Die zunächst erhoffte Verbesserung des Agglomerationsverhaltens durch Einsatz von Ultraschall während der Reaktion konnte nicht beobachtet werden. Eine Begründung lieferten Enamoto *et. al* mit ihrem Nachweis, dass

Ultraschall zwar kurzfristig eine gute Dispersion liefert, gleichzeitig aber eine nachfolgende Agglomeration fördert.^[258] Außerdem erfolgte die Zugabe des im Alkohol gelösten TEOS mit Hilfe einer Spritzenpumpe (ca. 0.01 mL/min), um eine Übersättigung der Kieselsäurederivate in der Lösung zu verhindern und die Silica-Schicht langsam aufzubauen. Zwar soll die Konzentration desselben nicht für die Kolloidbildung entscheidend sein, doch sind laut Christina Graf von der FU Berlin bessere Ergebnisse bei einer portionierten Zugabe von TEOS beobachtet worden. Die erwähnten Optimierungen brachten nur einen Erfolg in der Ausbildung von monodispersen Silica-Partikeln mit einem Durchmesser zwischen 40 und 60 nm (Abbildung 3.10, e) und f)). Diese Partikel wurden vor magnetischer Separation in der Lösung gebildet, besaßen allerdings keinen Magnetit-Kern und waren nach mehreren Waschvorgängen mit magnetischer Sedimentation nicht mehr vorhanden. Außerdem wurden weiterhin Aggregate gebildet (Abbildung 3.10 e)), da die Reaktion mit 24 h sehr viel Zeit in Anspruch nimmt und somit trotzdem Aggregatbildung über die $\text{PVP-Fe}_3\text{O}_4$ -Partikel ermöglicht wird. Testmessungen wiesen die beobachtete Agglomeration der $\text{PVP-Fe}_3\text{O}_4$ -Partikel bereits nach 90 min aus, womit die Ausbildung einer gleichmäßigen Silica-Schale um die Partikel unwahrscheinlich wird. Zusätzlich könnte das eingesetzte PVP die intermolekulare Kondensation von Silica-Netzwerken auf der Oberfläche der Magnetit-Partikel durch Abschirmung der funktionellen Hydroxy-Gruppen einschränken.

Aufgrund der beobachteten Agglomerat- und Aggregatbildung konnte eine erfolgreiche Synthese von monodispersen Kern-Schale-Partikeln unter Verwendung der klassischen Stöber-Synthese nicht realisiert werden. Auf eine spätere Aminofunktionalisierung der gebildeten Partikel wurde verzichtet und alternative Synthesewege angestrebt. Einen vielversprechenden Ansatz lieferte die Mikrowellentechnik, da diese bereits bei der Optimierung der Synthese von Magnetit-Partikeln erfolgreich eingesetzt wurde. Die Anwendung des klassischen Stöber-Prozesses wurde bei den optimierten Fe_3O_4 -Nanopartikeln nicht weiter verfolgt, da sich die Mikrowellentechnik durch eine deutliche Verringerung der Reaktionszeit auszeichnete, was im folgenden Kapitel näher erläutert wird.

b) Mikrowellenunterstützte Synthese

Aufgrund der erfolgreichen Optimierung der Fe_3O_4 -Nanopartikelsynthese mit Hilfe von Mikrowellentechnik wurde eine Anwendung derselben bei den Coating-Experimenten in Betracht gezogen, um die im vorherigen Abschnitt erwähnten Syntheseprobleme zu beheben. Dabei sollte vor allem eine schnelle Umsetzung der frisch hergestellten Fe_3O_4 -Partikel in einem auf Mikrowellentechnik übertragenen Stöber-Prozess die gewünschten Ergebnisse liefern. Als Ausgangspunkt diente eine Arbeit von Bahadur *et al.*, die erfolgreich einen Mikrowellenreaktor einsetzen konnten,^[259] um Silbernanopartikel mit einer Silica-

Schale zu umhüllen. Dabei wurde auf den Stabilisierungsschritt mit PVP verzichtet, da dadurch ein Reaktionsschritt eliminiert werden konnte (Abbildung 3.12). Zudem sollte die Wahrscheinlichkeit einer Agglomeration der Magnetit-Partikel durch die wesentlich kürzere Reaktionszeit geringer und eine schnellere Umsetzung derselben mit den entstehenden Silica-Netzwerken möglich sein.

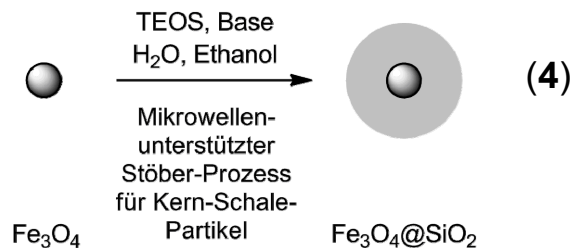


Abbildung 3.12. Synthesestrategie zur Beschichtung von Fe_3O_4 -Nanopartikeln mit Silica mit Hilfe von Mikrowellentechnik.

Die Synthese orientierte sich bei den einzusetzenden Edukten ebenfalls am Stöberprozess, wobei zunächst als Base Dimethylamin verwendet wurde. Die frisch in Benzyalkohol hergestellten Magnetit-Partikel wurden mehrfach mit Ethanol gewaschen und anschließend in selbigen dispergiert. Nach Zugabe von Wasser (≈ 11 M), Dimethylamin als Base (≈ 0.8 M) und Tetraethylorthosilikat (1 mmol) wurde die Reaktionslösung unter starkem Rühren in einem Mikrowellenreaktor auf 50°C mit einer Bestrahlungszeit von 2 Minuten (Leistung: 300 W) erhitzt. Die synthetisierten Partikel wurden anschließend magnetisch sedimentiert. Durch den Wegfall des PVP-Stabilisierungsschritts sollten die Hydroxy-Funktionen an der Oberfläche der Magnetit-Kolloide zur Bindungsbildung zur Verfügung stehen. Durch intermolekulare Kondensation lagern sich die beim Stöber-Prozess gebildeten Silica-Netzwerke auf den Fe_3O_4 -Nanopartikeln ab und nachfolgend kondensieren diese Keime auf der Nanopartikeloberfläche zu einem geschlossenen Netzwerk um das Partikel (Abbildung 3.13).

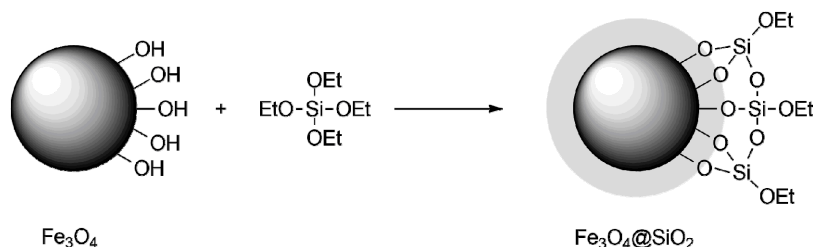


Abbildung 3.13. Bildung einer Silica-Schale um einen Fe_3O_4 -Nanopartikel unter Verwendung von TEOS. Durch Kondensationsreaktionen lagern sich Silica-Netzwerke auf dem magnetischen Nanopartikel ab.

SEM-Bilder der entstandenen Partikel (Abbildung 3.14), die mit der automatischen Software ImageJ ausgewertet wurden,^[251] zeigen, dass kugelförmige Kolloide einem mittleren

Durchmesser von $d = 265$ nm mit einer Standardabweichung von 59 nm entstanden sind, die allerdings untereinander große unförmige Aggregate bilden.

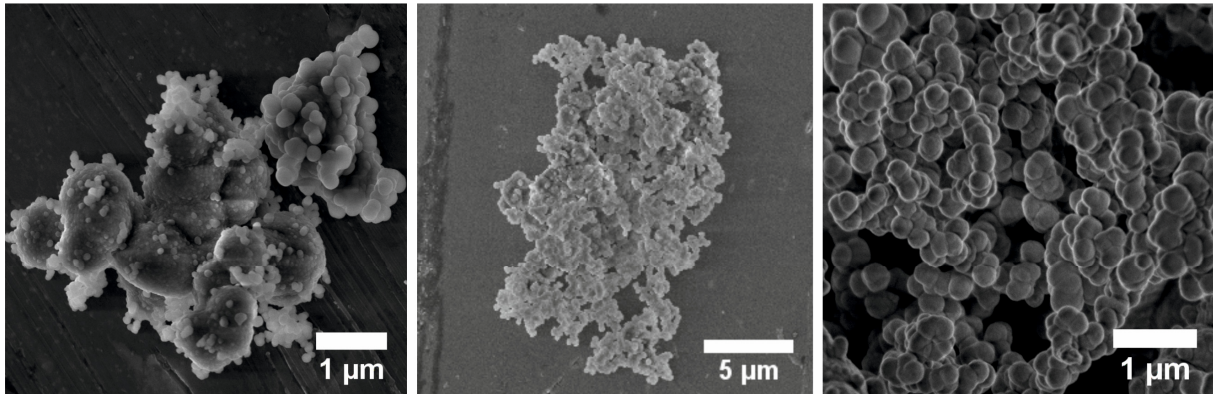


Abbildung 3.14. SEM-Aufnahmen von $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{SiO}_2$ -Partikeln – Bildung von Agglomeraten und Aggregaten untereinander.

Die entstandenen Aggregate zeigten Durchmesser im Mikrometer-Bereich, wodurch die Oberfläche stark minimiert wird und somit auch ein möglicher Beladungsgrad in einem anschließenden Funktionalisierungsversuch sinken würde. Im Folgenden wurden verschiedene Parameter in der Synthese variiert. Die Konzentration von Tetraethylorthosilicat (TEOS) hat wie erwähnt keinen Einfluss auf die Größe der Partikel. Dagegen zeichnen sich die Konzentrationen von Wasser und Base verantwortlich für den Durchmesser der entstehenden Partikel.^[195] Trotz Variation derselben bestand weiterhin das Problem der Aggregation. Als Ursache dafür kommen verschiedene Möglichkeiten in Betracht. Zum einen können die Magnetit-Partikel bereits vor dem Coating wie oben bereits beschrieben agglomerieren. Zum anderen kann das Rührsystem mit zwei negativen Effekten auf die Reaktion einwirken. Während das Rührstäbchen durch das eigene Magnetfeld die Fe_3O_4 -Partikel anzieht, bewirkt eine zu geringe Größe des Stäbchens eine ungenügende Durchmischung der Reaktionslösung und begünstigt so die Vernetzung der Partikel untereinander. Optimierung brachte hierbei die Verwendung von zwei Rührstäbchen gleichzeitig in einem Reaktor. Eine weitere Möglichkeit für die Bildung der Silica-Agglomerate ist die eingesetzte Base Dimethylamin. Beobachtungen zeigten, dass sich auch ohne Mikrowellen-Bestrahlung nach wenigen Minuten mikrometergroße Partikel bildeten. Da für die benötigten Waschschrte eine Abtrennung der Partikel von der Reaktionslösung erforderlich ist, kann es bei der Sedimentation ebenfalls zu Agglomeration und dabei zur Bildung von Silica-Brücken zwischen den Kolloiden kommen. Dimethylamin zeigte im Stöber-Prozess eine sehr hohe Reaktivität. Um diesen Effekt zu minimieren, wurde auf Ammoniak als Base (25 % in H_2O) in zunächst 0.8 molarer Konzentration umgestellt. Dadurch wurden kugelförmige, monodisperse Kern-Schale-Partikel erhalten, deren Größenbereich allerdings zwischen 100 und 200 nm lag (Abbildung 3.15).

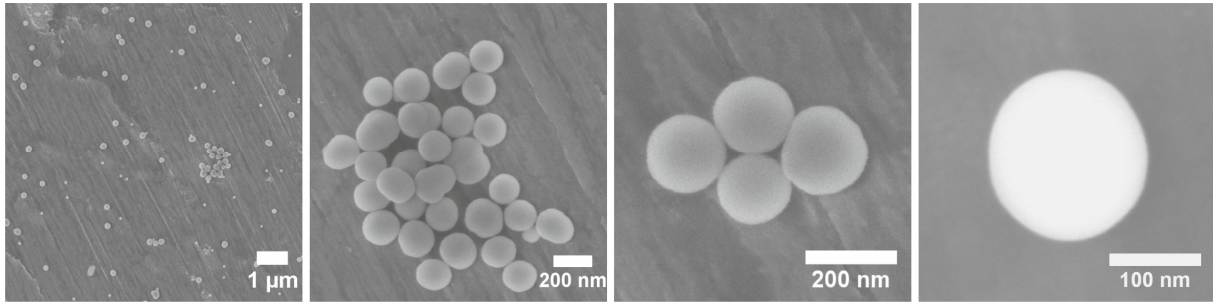


Abbildung 3.15. SEM-Aufnahmen von kugelförmigen, monodispersen $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{SiO}_2$ -Partikeln.

Durch Anwendung der magnetischen Sedimentation konnte auf einen magnetischen Kern in den Silica-Partikeln geschlossen werden, was durch anschließende TEM-Messungen nachgewiesen werden konnte.

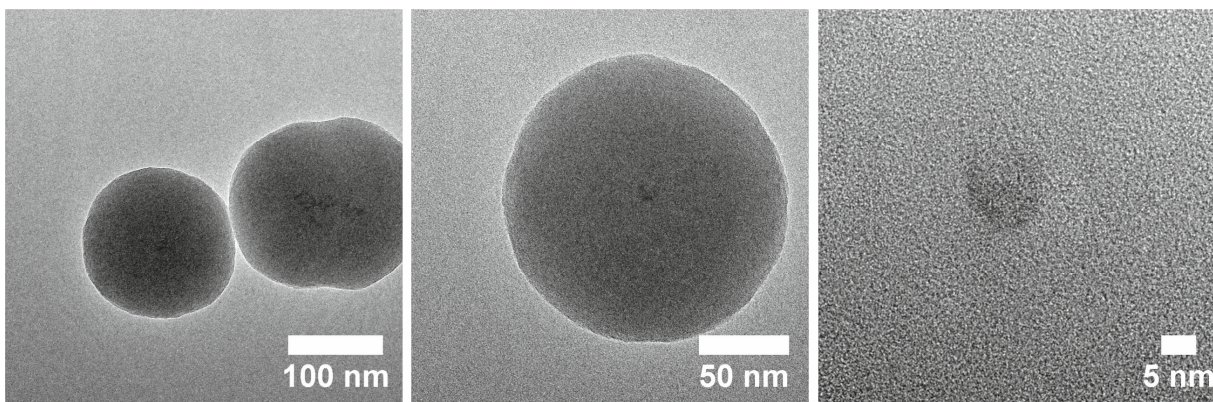


Abbildung 3.16. TEM-Aufnahmen von monodispersen $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{SiO}_2$ -Partikeln mit einem Durchmesser von ~ 150 nm. Die Fe_3O_4 -Kerne sind von einer Silica-Schale umhüllt.

Da die Partikelgröße noch nicht im gewünschten Größenbereich zwischen 70 und 100 nm lag, wurde die Konzentration an Wasser auf 16.5 M erhöht, um kleinere Partikel zu erhalten. Eine weitere Optimierungsmöglichkeit bot die Veränderung der Reaktionstemperatur und –zeit. Durch Kombination der verschiedenen Optimierungsvarianten gelang die Synthese von kugelförmigen, monodispersen Kern-Schale-Partikeln mit gewünschtem Durchmesserbereich von 67 ± 9 nm (Abbildung 3.17). Die in absolutem Ethanol dispergierten Fe_3O_4 -Nanopartikel wurden mit TEOS (1 mmol), Wasser (16.5 M) und 25%iger Ammoniak-Lösung (0.5 M) gemischt und die Reaktionslösung unter starkem Rühren in einem Mikrowellenreaktor auf 60 °C mit einer Bestrahlungszeit von 3 Minuten (Leistung: 300 W) erhitzt. Aufgrund magnetischer Sedimentation in den Waschschritten kann von der Anwesenheit von Kern-Schale-Kolloiden ausgegangen werden, allerdings könnte es sich theoretisch auch noch um Fe_3O_4 -Partikel ohne Silica-Schale handeln. Reine Silica-Partikel ohne Kern sollten durch die Waschvorgänge aber abgetrennt werden. Spätere TEM-Aufnahmen der Probe), die mit der automatischen Software ImageJ ausgewertet wurden,^[251] lieferten den eindeutigen Nachweis der Kern-Schale-Struktur (Abbildung 3.17).

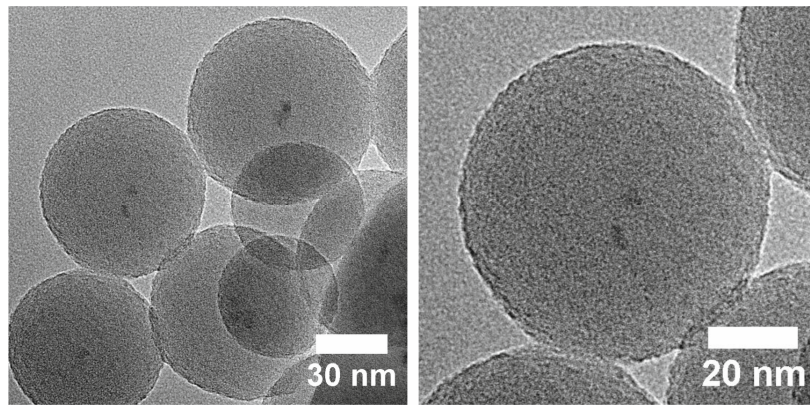


Abbildung 3.17. TEM-Aufnahmen von monodispersen $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{SiO}_2$ -Partikeln mit einem Durchmesser von ~ 67 nm. Die Fe_3O_4 -Kerne sind von einer Silica-Schale umhüllt.

Die 6 ± 1 nm großen Fe_3O_4 -Nanopartikel sind von einer Silica-Matrix umschlossen. Teilweise sind auch mehrere Kerne in einer Schale eingeschlossen, da diese während der Synthese agglomerierten. Die definierten, monodispersen Kern-Schale-Partikel zeigen einen durchschnittlichen Durchmesser von 67 ± 9 nm (gemäß Auswertung TEM).

AFM-Analysen zeigten Probleme mit Agglomeration der Partikel auf dem Objektträger, sodass eine optimale Messung mittels AFM nicht möglich war.

FT-IR-Messungen von getrockneten $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{SiO}_2$ -Partikeln zeigten charakteristische, starke Si-O-Si-Schwingungssignale bei $\nu = 1070 \text{ cm}^{-1}$ (Streckschwingung der Si-O-Si-Bindung) und $\nu = 806 \text{ cm}^{-1}$ (Biegeschwingung der Si-O-Si-Bindung).

Das für die $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{SiO}_2$ -Partikel ermittelte Zeta-Potential lag bei $\xi = -38 \text{ mV}$ und deutet ebenfalls auf die Ausbildung einer Silica-Schale hin, da der ermittelte Wert reiner Magnetit-Partikel im positiven Potentialbereich lag. Diese Änderung des Zeta-Potentials nach einer Beschichtung von Magnetit-Partikel mit Silica ist wurde bereits dokumentiert und ist mit den Messungen vergleichbar.^[255]

EDX-Messungen zeigten eine prozentuale Zusammensetzung der $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{SiO}_2$ -Nanopartikel nach Hintergrundkorrektur mit 71% Sauerstoff, 16% Eisen und 13% Silicium (Tabelle 3.1). Die qualitative Analyse zeigt einen starken Anstieg im Verhältnis von Sauerstoff zu Eisen im Vergleich zu den Messungen bei unbeschichteten Fe_3O_4 -Nanopartikeln. Im Zusammenhang mit dem gleichzeitigen Nachweis von Silicium kann ebenfalls auf die Anwesenheit eines Silica-Netzwerks geschlossen werden.

Die hergestellten $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{SiO}_2$ -Partikel wurden anschließend in einem mikrowellenunterstützten Funktionalisierungsschritt eingesetzt.

3.2.3 Die Synthese von $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{SiO}_2@\text{NH}_2$ -Nanopartikeln

Für die Synthese Amino-funktionalisierter $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{SiO}_2$ -Nanopartikel wurde folgender Ansatz gewählt: Die an der Oberfläche der $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{SiO}_2$ -Nanopartikel befindlichen Hydroxylfunktionen sollten dazu genutzt werden, um über einen zweiten Stöber-Prozess ein dünnes Silica-Netzwerk mit freien Amino-Funktionalitäten zu bilden, quasi als zweite Schale um den magnetischen Kern (Abbildung 3.18).^[69, 259-262]

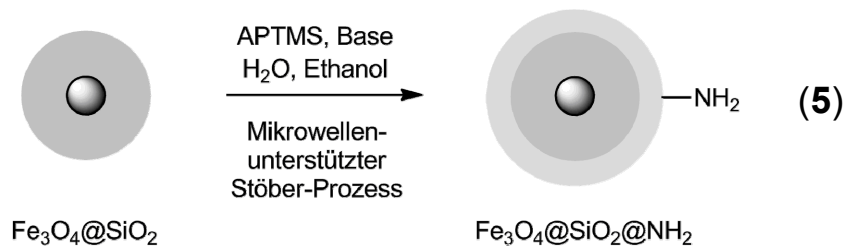


Abbildung 3.18. Amino-Funktionalisierung von $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{SiO}_2$ -Nanopartikeln. Es erfolgt eine Umsetzung der Partikel mit (3-Aminopropyl)trimethoxysilan in einem mikrowellenunterstützten Stöber-Prozess.

Dabei diente (3-Aminopropyl)-trimethoxysilan (APTMS) als netzwerkbildender Prekursor für die Kondensationsreaktionen mit freien Hydroxylfunktionen an der Partikeloberfläche. Für die Funktionalisierung wurde ebenfalls eine mikrowellenunterstützte Synthesevariante entwickelt. Den in Ethanol dispergierten $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{SiO}_2$ -Partikeln wurde Wasser (16.5 M), Ammoniak als Base (0.8 M) und APTMS (0.5 M) zugesetzt und die Reaktionslösung unter starkem Rühren in einem Mikrowellenreaktor auf 60 °C mit einer Bestrahlungszeit von 3 Minuten (Leistung: 300 W) erhitzt. Anschließend wurden die erhaltenen $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{SiO}_2@\text{NH}_2$ -Partikel mehrfach mit Ethanol gewaschen und analysiert.

Auf eine erfolgreiche Amino-Funktionalisierung deutet die Änderung des Zeta-Potentiala von $\xi = -38$ mV für $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{SiO}_2$ -Partikel auf bis zu $\xi = +41$ mV bei $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{SiO}_2@\text{NH}_2$ -Partikeln hin. Der positive Wert erklärt sich durch die jetzt an der Oberfläche vorhandenen Aminopropyl-Reste.

TEM-Aufnahmen, die mit der automatischen Software ImageJ ausgewertet wurden,^[251] zeigen die Erhaltung der Kern-Schale-Struktur und die Abwesenheit von großen Partikel-Agglomerationen (Abbildung 3.21). Die Auswertung der TEM-Aufnahmen lassen auf einen leicht erhöhten durchschnittlichen Durchmesser von 69 ± 8 nm schließen.

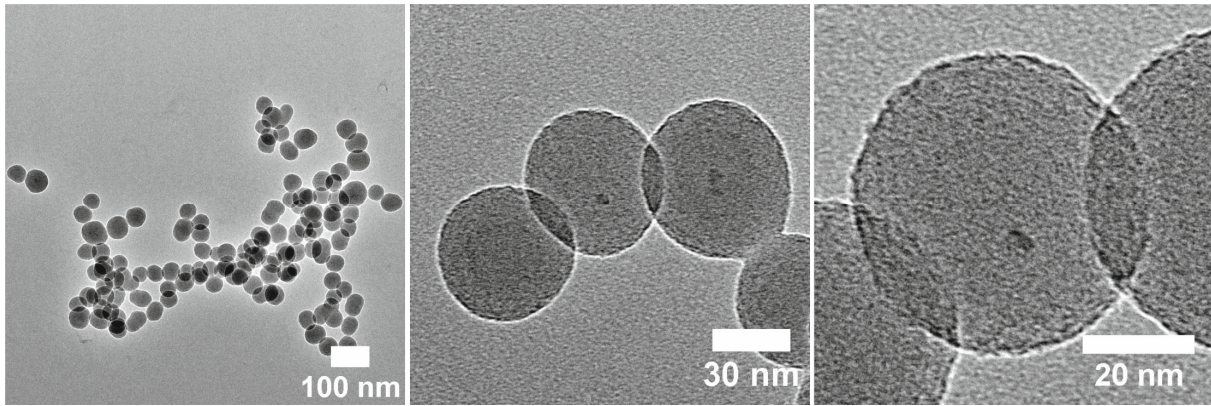


Abbildung 3.19. TEM-Aufnahmen von $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{SiO}_2@\text{NH}_2$ -Nanopartikeln mit einem Durchmesser von ~ 69 nm. Die Fe_3O_4 -Partikel sind in einer $\text{SiO}_2@\text{NH}_2$ -Matrix eingeschlossen.

Eine in Zusammenarbeit von Prof. Thünemann durchgeführte und ausgewertete Messung mit Röntgenkleinwinkelstreuung (SAXS, Small-angle X-ray scattering) resultierte in einer Streukurve, die in Abbildung 3.20 aufgezeigt ist (schwarze Linie).

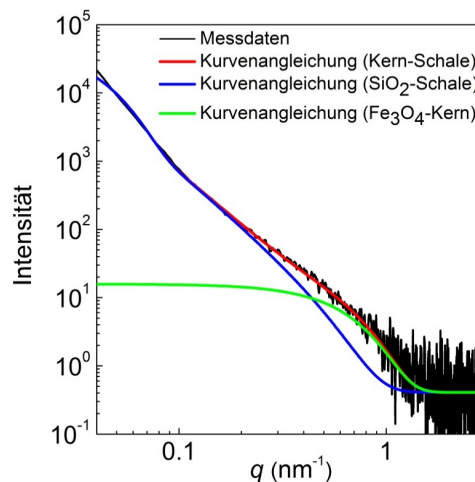


Abbildung 3.20. SAXS Messung einer Dispersion von $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{SiO}_2@\text{NH}-(\beta\text{Ala})_2@\text{Rink-Linker}$ Partikel. Die schwarze Linie zeigt die Messdaten, während die rot-gepunktete Linie eine Kurvenangleichung nach dem Exponential/Potenzfunktions-Ansatz darstellt. Der Streubeitrag der Fe_3O_4 -Kerne und der SiO_2 -Schale sind mit einbezogen (jeweils grüne und blaue Linie).

An der Form der Kurve ist zu erkennen, dass die zweite Schale mit $\text{NH}-(\beta\text{Ala})_2@\text{Rink-Linker}$ mit SAXS nicht erkennbar ist. Dies ist aber auch zu erwarten, da der Kontrast der Röntgenstreuung des organischen Materials circa zwei Größenordnungen kleiner ist, als der Kontrast der anorganischen SiO_2 -Schale und auch des Fe_3O_4 -Kerns. Die Kurve zeigt einen bestimmten Guinier-Bereich bei q -Werten unter 0.07 nm^{-1} , was auf definierte Nanopartikel und auch das Fehlen von Aggregaten schließen lässt. Die Streumessungsdaten können mit dem vereinigten Exponential/Potenzfunktions-Ansatz gut beschrieben werden (Abbildung 3.20, schwarze und rote Linie). Dabei wird von den $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{SiO}_2@\text{NH}-(\beta\text{Ala})_2@\text{Rink-Linker}$ Partikeln der Streubeitrag der Fe_3O_4 -Kerne und der SiO_2 -Schale einzeln modellhaft aufgezeigt (blaue und grüne Linie). Die errechneten Gyrationradien der Fe_3O_4 -Kerne haben einen Wert von $2.7 \pm 0.1 \text{ nm}$. Der Kerndurchmesser liegt bei $6.9 \pm 0.3 \text{ nm}$, wenn der dieser

über $d = 2 \cdot \left(\frac{5}{3}\right)^{\frac{1}{2}} R_g$ berechnet wird. Dies bestätigt sehr gut die über TEM erhaltenen Daten. Die Gyrationradien der SiO₂-Schalen betragen 45 ± 1 nm. Die Größenverteilung der Schalen ist viel breiter als bei den Kernen, kann allerdings nicht bestimmt werden, da die Schalen nicht mit dem Porod-Gesetz zu beschreiben sind.^[263] Der Intensitäts-gewichtete SiO₂-Schalendurchmesser liegt bei etwa 110 nm. Dieser Wert liegt höher als die über TEM erhaltenen Daten. Allerdings passen diese SAXS- und TEM-Ergebnisse gut zusammen, wenn man in Betracht zieht, dass Intensitäts-gewichtete Durchmesser größer sein müssen, als Zahlen-gewichtete für fein verteilte Proben (Abschnitt 9.4.1).

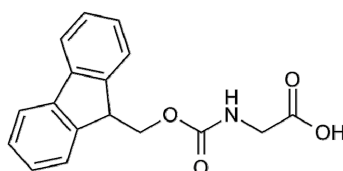
EDX-Messungen zeigten eine prozentuale Zusammensetzung der Fe₃O₄@SiO₂@NH₂-Partikel nach Hintergrundkorrektur mit 62% Sauerstoff, 7% Eisen, 4% Silicium, 22% Kohlenstoff und 5% Stickstoff (Tabelle 3.1). Durch den qualitativen Nachweis durch Anstieg an C- und N-Anteilen wird eine erfolgreiche Funktionalisierung ebenfalls bestätigt. Allerdings kann hier nur eine qualitative Aussage getroffen werden, da die Nachweisgrenze für Elemente mit einer Ordnungszahl < 10 dramatisch schlechter wird.

Tabelle 3.1. Energie-dispersive Röntgen Spektroskopie (EDX) Messung: Elementare Zusammensetzung nach Hintergrundkorrektur von Fe₃O₄, Fe₃O₄@SiO₂ und Fe₃O₄@SiO₂@NH₂ Nanopartikeln.

Partikel	O	Fe	Si	C	N
Fe ₃ O ₄	38%	62%	n.d.	n.d.	n.d.
Fe ₃ O ₄ @SiO ₂	71%	16%	13%	n.d.	n.d.
Fe ₃ O ₄ @SiO ₂ @NH ₂	62%	7%	4%	22%	5%

n.d.=nicht detektiert

Die quantitative Bestimmung der vorhandenen Amino-Funktionen wurde UV-spektrometrisch durch Beladung mit Fmoc-geschütztem Glycin mit anschließender Abspaltung der Amin-Schutzgruppe durchgeführt.



Fmoc-Glycin

Abbildung 3.21. Fmoc-geschütztes Glycin zur quantitativen Bestimmung der Amino-Funktionalisierung der Partikeln.

Dabei wurde eine definierte Menge der Fe₃O₄@SiO₂@NH₂-Partikel mit Fmoc-Glycin beladen. Anschließend wurde die Fmoc-Schutzgruppe mit einer Lösung aus Piperidin/DMF

(1:4) abgespalten und UV-spektrometrisch bei 301 nm untersucht. Die Konzentration des Piperidin-Fulven-Adduktes ergab mit Hilfe des Lambert-Beerschen Gesetzes einen durchschnittlichen Beladungsgrad der Partikel von 0.11 mmol/g. Die Beladungswerte von handelsüblichen Tentagel®-Synthese-Harzen liegen zwischen 0.14 und 0.27 mmol/g. Die erhaltenen Beladungswerte liegen in der Nähe dieses Bereichs.

Das theoretische Volumen und die theoretische Oberfläche der $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{SiO}_2@\text{NH}_2$ -Nanopartikel lassen sich durch den ermittelten TEM-Durchmesser der Partikel ($d=70\text{ nm}$) unter Annahme eines geschlossenen Silica-Netzwerks und einer sphärischen Form der Partikel berechnen:

$$V_{70\text{nm-Partikel}} = \frac{1}{6} \cdot \pi \cdot d^3 = 179594\text{ nm}^3 \quad (\text{Gleichung 7})$$

$$A_{70\text{nm-Partikel}} = \pi \cdot d^2 = 15393\text{ nm}^2 \quad (\text{Gleichung 8})$$

Über die Dichte von Silica ($\rho = 2.66\text{ g/cm}^3$) kann nun das Gewicht eines Partikels mit einem Durchmesser von 70 nm berechnet werden. Dabei kann der Magnetitkern vernachlässigt werden, da dieser bei einer durchschnittlichen Größe von 6 nm weniger als ein Tausendstel der Masse ausmachen würde:

$$m_{70\text{nm-Partikel}} = \rho_{\text{Silica}} \cdot V_{70\text{nm-Partikel}} = 4.78 \cdot 10^{-16}\text{ g} \quad (\text{Gleichung 9})$$

Bei einer Beladung von 0.11 mmol/g kann nun die durchschnittliche Anzahl Amino-Funktionen auf einem einzelnen Partikels über die Avogadro-Konstante ($N_A = 6.022 \cdot 10^{23}\text{ mol}^{-1}$) bestimmt werden:

$$\begin{aligned} \text{Amino-Funktionen}_{70\text{nm-Partikel}} &= \text{Beladung} \cdot m_{70\text{nm-Partikel}} \cdot N_A \\ &= 3.17 \cdot 10^4 \end{aligned} \quad (\text{Gleichung 10})$$

Wird diese Zahl ins Verhältnis zur errechneten Oberfläche gesetzt, erhält man die Anzahl Amino-Funktionen pro nm^2 :

$$\frac{\text{Amino-Funktionen}}{\text{nm}^2} = \frac{3.17 \cdot 10^4}{1.54 \cdot 10^4\text{ nm}^2} = 2.06\text{ nm}^{-2} \quad (\text{Gleichung 11})$$

Damit sind rein theoretisch betrachtet statistisch 2.06 Amino-Funktionen pro Quadratnanometer auf den Partikeln vorhanden. Durchgeführte N_2 -Sorptionmessungen ergaben eine reelle Oberfläche von $29.27\text{ m}^2/\text{g}$ für die $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{SiO}_2@\text{NH}_2$ -Partikel. Der Verlauf der Messkurve ist dabei typisch für kleine Partikel (nahezu linear), aufgrund der stetig ansteigenden Aufnahme von Gas. Ein starker Anstieg am Ende des Verlaufs lässt auf ein unporöses Material mit großer äußerer Oberfläche schließen. Unter der Annahme eines kondensierten Silica-Netzwerks kann über die Dichte von SiO_2 ein Durchmesser von $\sim 76\text{ nm}$ berechnet werden, was sich mit den gezeigten TEM-Ergebnissen deckt. Mit dem ermittelten reellen Oberflächenwert von $29.27\text{ m}^2/\text{g}$ lässt sich eine realistische Beladung der Partikel mit Hilfe der Gleichungen 8 - 11 berechnen. Der gemessene Wert ergibt eine durchschnittliche

Oberfläche von 18160 nm² pro Partikel. Bei einer Beladung von 0.11 mmol/g sind damit statistisch 2.23 Amino-Funktionen pro Quadratnanometer auf den Partikeln vorhanden (Abschnitt 9.4.1). Der Zahlenwert liegt im gleichen Bereich wie der theoretisch ermittelte über TEM-Aufnahmen und sollte ein Vorteil beim Aufbau von Peptiden o.ä. sein, da diese bei steigender Kettenlänge einen gewissen räumlichen Platz benötigen und ein höherer Wert die Wahrscheinlichkeit von Peptid-Interaktionen erhöht, welche die Peptidsynthese beeinflussen könnten.

Die hergestellten Fe₃O₄@SiO₂@NH₂-Nanopartikel wurden in Folgereaktionen mit Spacer- und Linker-Molekülen funktionalisiert und anschließend in verschiedenen festphasengebundenen Synthesen eingesetzt (Abschnitte 4-6). Außerdem wurden verschiedene Strategien verfolgt, um durch Kupplung verschiedener organischer Moleküle eine Erhöhung der Konzentration der Amino-Funktionalitäten zu erreichen (Abschnitt 3.6).

3.3 Trägermaterial: MagSilica@NH₂-Nanopartikel

3.3.1 Funktionalisierung von MagSilica-Nanopartikeln

Die Entwicklung superparamagnetischer, monodisperser Fe₃O₄@SiO₂@NH₂-Nanopartikeln, die zur Peptidsynthese eingesetzt werden können, konnte erfolgreich realisiert werden, allerdings ist die Herstellung derselben im hohen Maßstab sehr zeitaufwändig. Zwar sind die Reaktionszeiten durch die verwendete Mikrowellentechnik sehr kurz, allerdings ist die Ansatzgröße durch das maximale Volumen der Reaktionsgefäße (hier V_{max}=30 mL) beschränkt. Daher muss der gesamte Syntheseweg repetitiv durchgeführt werden, um eine größere Menge funktionalisierter Partikel zu bekommen. Deswegen wurde nach Alternativen gesucht, Syntheseschritte zu ersetzen oder komplett zu überspringen. Eine preiswerte Alternative bieten die in Kapitel 2.2.3 vorgestellten MagSilica-Nanopartikel der Firma Evonik Industries mit γ -Fe₂O₃-Kernen in einer Silica-Umhüllung.^[180-181, 183-184, 224] Dieses industriell hergestellte, superparamagnetische Verbundmaterial steht in großer Menge zur Verfügung und bietet durch freie Hydroxy-Funktionen auf der Oberfläche einen Ansatz zur Amino-Funktionalisierung. Ausgewertete TEM-Aufnahmen von MagSilica zeigen polydisperse Partikel, mit einer mittleren Größe von 27±2 nm (Abbildung 3.22). Eine definierte Kern-Schale-Struktur kann in den Bildern allerdings nicht erkannt werden.

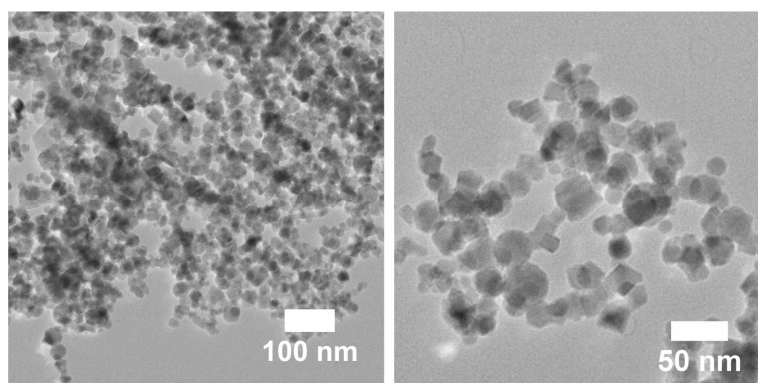


Abbildung 3.22. TEM-Aufnahmen von MagSilica-Nanopartikeln. γ -Fe₂O₃-Partikel sind in einer SiO₂-Matrix eingeschlossen.

Da dieses Komposit (zusammengesetztes Material) mit magnetischen Kernen und einer abgeschlossenen Silica-Matrix bereits vorlag, konnte eine direkte Amino-Funktionalisierung der Oberfläche entwickelt werden.

In Zusammenarbeit mit Felix Gandor (u.a. in seiner Bachelorarbeit ^[264]) wurde die mikrowellenunterstützte Amino-Funktionalisierung auf MagSilica-Nanopartikel erfolgreich übertragen. Dafür wurde der bereits etablierte, mikrowellenunterstützte Stöberprozess unter Verwendung von APTMS als Prekursor angewendet. Ziel war es, die für MagSilica optimalen

Synthesebedingungen für eine hohe Amino-Funktionalisierung der Oberfläche zu finden. Dazu wurden in der Bachelor-Arbeit von Felix Gandor,^[264] ausgehend von der entwickelten Synthesevorschrift,^[265-266] die Synthesedauer, die Konzentrationen von APTMS und Base, das Ethanol/Wasser-Verhältnis sowie die Art der Base systematisch variiert. Hier soll eine Zusammenfassung der Ergebnisse gezeigt werden:

Die MagSilica-Partikel wurden zusammen mit den Reagenzien in einem Mikrowellenreaktor vereinigt, welcher anschließend in einen Mikrowellenreaktor überführt und unter starkem Rühren auf 60 °C mit unterschiedlichen Bestrahlungszeiten (Leistung: 300 W) erhitzt. Die Konzentration der freien Amino-Funktionen wurde nach Kupplung von Fmoc-geschütztem Glycin wie bereits erwähnt durch analytische Fmoc-Bestimmung quantitativ ermittelt. Synthesedauer und Menge an zugesetztem Wasser spielten eine untergeordnete Rolle bei der Funktionalisierung. Stärkere Effekte waren bei Konzentrationsveränderungen von APTMS, Ethanol und der jeweiligen Base bzw. die Art derselben zu beobachten. Den stärksten Einfluss zog eine Konzentrationserhöhung von APTMS nach sich, was sich auch auf die ausgebildete Schichtdicke der neu ausgebildeten, funktionalisierten Silica-Schicht auswirkte.^[264] Für den höchsten Funktionalisierungswert in einem 15 mL-Mikrowellenreaktor konnten folgende Mengen der eingesetzten Edukte ermittelt werden: 50 mg MagSilica-Nanopartikel, 1.5 mL APTMS, 90 µL Ammoniak (25%), 0.75 mL Wasser und 2.0 mL Ethanol. Dadurch konnte eine durchschnittliche Oberflächenbeladung von 0.10 mmol/g erreicht werden. Abbildung 3.23 zeigt TEM-Aufnahmen der so hergestellten MagSilica@NH₂-Partikel.

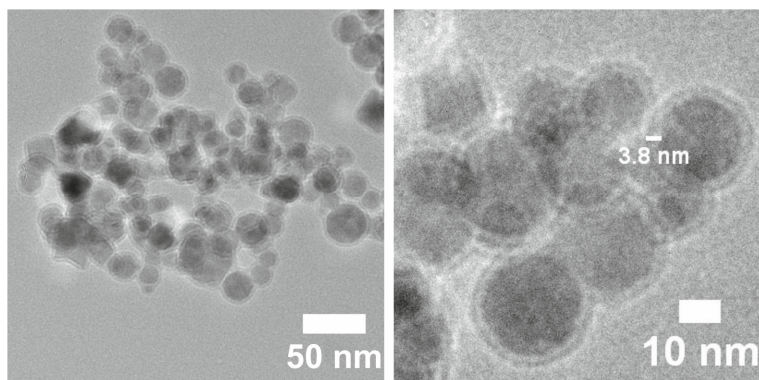


Abbildung 3.23. TEM-Aufnahmen von MagSilica@NH₂-Partikeln (**6**) ($d=31\pm 2\text{nm}$).

Die TEM-Aufnahmen lassen die Ausbildung der zweiten Silica-Schicht auf der Oberfläche der MagSilica@NH₂-Partikel vermuten. Um jedes Partikel ist eine Schicht anhand eines Kontrastunterschieds zum Ausgangsmaterial erkennbar, welche ein durch APTMS gebildetes Silica-Netzwerk darstellen könnte. Dabei korreliert die Schichtdicke mit der Konzentration von eingesetztem APTMS.^[264] Bei den genannten Bedingungen konnte nach einer Analyse der TEM-Aufnahmen mit der automatischen Software ImageJ^[251] eine Schichtdicke von $3.8\pm 0.3\text{ nm}$ ermittelt werden.^[264] Ein Grund für den unterschiedlichen Kontrast kann zum einen die Synthese-Art des jeweiligen Netzwerks. Während die reinen

MagSilica-Nanopartikel über Spray-Pyrolyse im Flammenreaktor hergestellt werden, läuft die Synthese der funktionalisierten Schicht nasschemisch im Mikrowellenreaktor ab. Zum anderen wird bei der Funktionalisierung mit APTMS ein anderer Prekursor eingesetzt, wodurch die gebildete zweite Silikathülle poröser sein kann. Durch nur drei verfügbare Silanol-Gruppen, sowie einem partiell geladenen Aminopropyl-Rest des APTMS, kommt es zur Ausbildung einer unterschiedlichen Netzwerkdicke, welche in den TEM-Aufnahmen durch unterschiedlichen Kontrast zu erkennen sind. BET-Messungen der Partikel ergaben eine leichte Oberflächenvergrößerung von vorher 34.6 m²/g auf 35.2 m²/g. Dies schließt die nachteilige Agglomeration von Partikeln aus. Da sich die Partikel aufgrund der Beschichtung vergrößert haben, sollte deren Oberfläche-zu-Masse-Verhältnis theoretisch sinken. Die entstandenen Poren vergrößern aber die in der BET-Messung mittels Gasadsorption gemessene Oberfläche leicht.

Die erfolgreiche Beschichtung wurde zusätzlich durch eine Änderung des Zeta-Potentials von $\xi = -23$ mV für MagSilica-Nanopartikel auf $\xi = +28$ mV bestätigt.

FT-IR-spektroskopische Analysen belegen ebenfalls die Funktionalisierung (Abbildung 3.24).

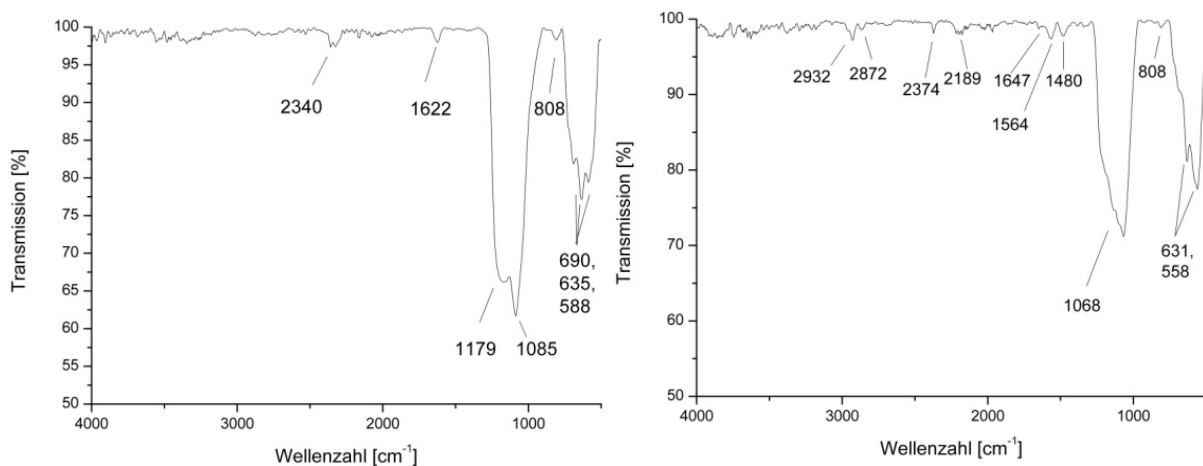


Abbildung 3.24. FT-IR-Spektren von MagSilica- (links) und MagSilica@NH₂-Partikeln (rechts).

Erkennbar ist das Auftreten neuer Banden bei 2932 cm⁻¹, 2872 cm⁻¹ und 1480 cm⁻¹, welche charakteristisch für das Propylfragment sind. Weitere neue Banden bei 1564 cm⁻¹ sowie 2189 cm⁻¹ sind der Amino-Funktion zuzuordnen.^[267]

Die hergestellten MagSilica@NH₂-Partikel wurden zum einen in der Peptidsynthese und zum anderen bei Strategien zur Erhöhung der Konzentration der Amino-Funktionalitäten eingesetzt. Ein Upscaling der erhöhten Funktionalisierung konnte ebenfalls realisiert werden, sodass in einem 30 ml-Reaktor 50 mg von MagSilica-Partikeln umgesetzt werden konnten. Ein weiteres Upscaling ist durch begrenzte Maximalvolumen der Reaktoren der eingesetzten Mikrowelle begrenzt.

3.4 Stabilitätsuntersuchungen und Eigenschaften

Die hergestellten Kern-Schale-Partikel sind während des Einsatzes als Trägermaterial bei der Festphasenpeptidsynthese stark basischen wie auch stark sauren Bedingungen ausgesetzt, bei denen eine Stabilität gegenüber diesen vorausgesetzt wird. Um den Schutzeffekt der Silica-Hülle auf den Magnetit-Kern zu testen, wurden die Fe_3O_4 - und die $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{SiO}_2$ -Nanopartikel jeweils zum einen einer Lösung aus Piperidin/NMP (1:4) und zum anderen einer Lösung aus TFA/DCM (1:1) ausgesetzt, die beide mehrfach während einer Standard-Festphasenpeptidsynthese eingesetzt werden. Abbildung 3.25 zeigt die UV-spektrometrischen Absorptionswerte der einzelnen Lösungen bei 420 nm nach magnetischer Sedimentation im sauren Medium (links) und im basischen Medium (rechts).

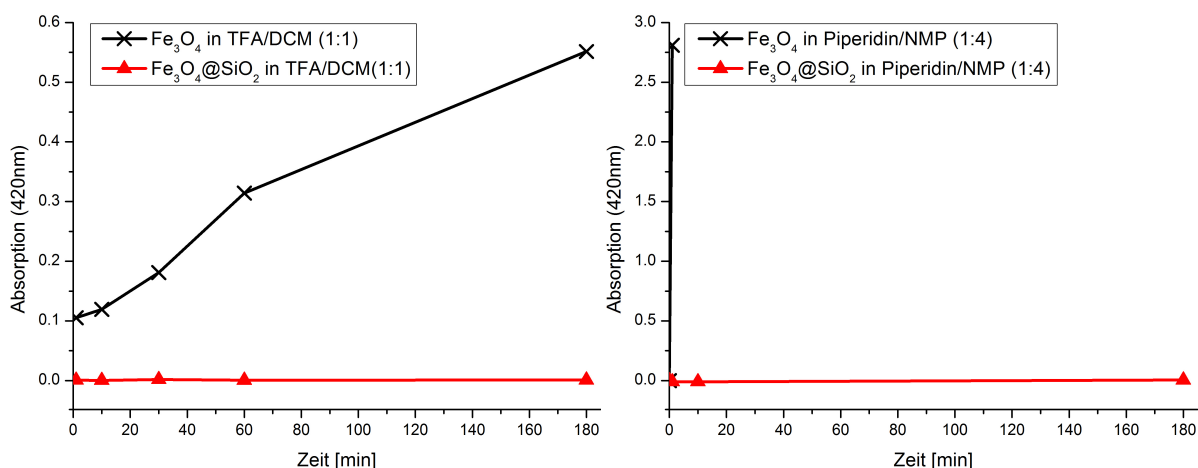


Abbildung 3.25. UV-Absorptionswerte ($\lambda=420\text{ nm}$) eines Stabilitätstests von Fe_3O_4 - und $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{SiO}_2$ -Partikel in einer Lösung aus TFA in DCM (1:1) (links) und in einer Lösung aus Piperidin in NMP (1:4) (rechts).

Während die ungeschützten Magnetit-Partikel vom sauren Medium angegriffen werden und sich mit dem Zeitverlauf zersetzen, schützt die Silica-Schale die eingeschlossenen Fe_3O_4 -Kerne. Noch stärker werden die Magnetit-Partikel im basischen Medium angegriffen. Bereits nach einer Minute sind die Partikel so stark zersetzt, dass keine weiteren Messwerte mehr dazu aufgenommen wurden. Die Silica-Schale schützt die Fe_3O_4 -Kerne auch im basischen Medium optimal.

Um die Stabilität der Amino-funktionalisierten Schale zu testen, wurden die $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{SiO}_2@\text{NH}_2$ -Nanopartikel mit der speziellen, UV-aktiven Aminosäure 4-(9-Fluorenylmethoxycarbonyl)aminobenzoesäure (Fmoc-4-Abz-OH) beladen. Fmoc-4-Abz-OH wurde an die freien Amino-Funktionen der Oberfläche gekuppelt (Abbildung 3.26).

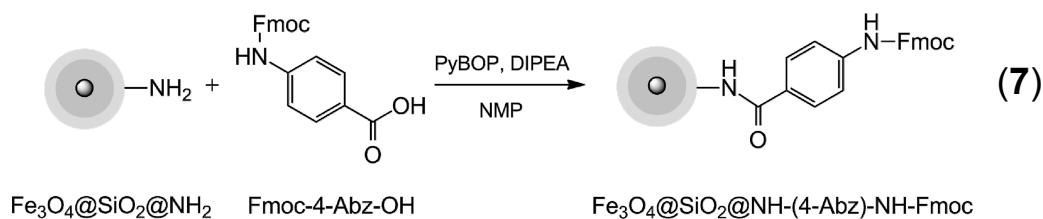


Abbildung 3.26. Kupplung von Fmoc-4-Abz-OH an $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{SiO}_2@\text{NH}_2$ -Nanopartikel.

Fmoc-4-Abz-OH absorbiert nach Abspaltung der Fmoc-Schutzgruppe im Bereich von 340 nm. Sollten sich Silica-Fragmente in sauren oder basischen Reaktionsmedien abspalten, könnten diese durch Analyse der Absorptionswerte im genannten Bereich detektiert werden, da sich die Aminosäure weiterhin am Fragment über den Aminopropylrest befindet. Dazu wurde über einen bestimmten Zeitverlauf $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{SiO}_2@\text{NH-(4-Abz)-NH}_2$ -Partikel (7) einer Lösung aus Piperidin/NMP (1:4) ausgesetzt. Abbildung 3.27 zeigt die UV-spektrometrischen Absorptionswerte der einzelnen Lösungen bei 340 nm nach magnetischer Sedimentation.

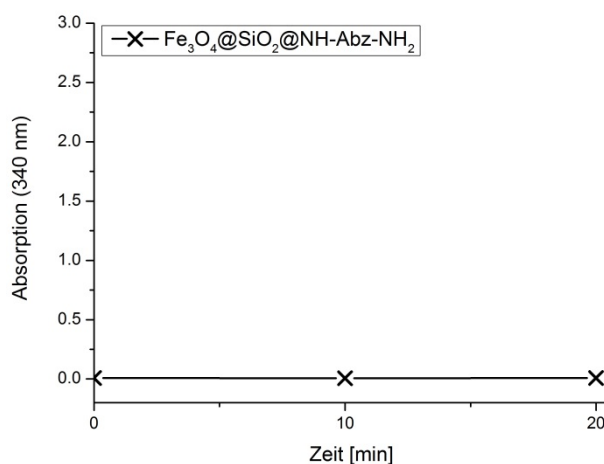


Abbildung 3.27. UV-Absorptionswerte ($\alpha=340$ nm) eines Stabilitätstests von $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{SiO}_2@\text{NH-(4-Abz)-NH}_2$ -Partikel in einer Lösung aus 20 % Piperidin in NMP.

Es zeigen sich keinerlei messbare Absorptionswerte über 20 Minuten, was für eine starke Stabilität der funktionalisierten Silica-Schale spricht.

Eine wichtige Eigenschaft der synthetisierten $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{SiO}_2@\text{NH}_2$ -Nanopartikel ist ihr schaltbarer Superparamagnetismus, der die Möglichkeit zur Sedimentation über ein externes Magnetfeld während einzelner Reaktionsschritte der Peptidsynthese liefert. In einer Dispersion in Ethanol sedimentieren die Partikel ohne angelegtes Magnetfeld innerhalb von 4 Stunden. Dies liegt zum einen an der Neigung von Silica-Partikeln zur Aggregation, zum anderen können trotz optimierter Synthese weiterhin einzelne Magnetit-Partikel vorliegen, welche die kritische Größe überschreiten und permanentmagnetisch wirken. Ein starkes externes Magnetfeld ermöglicht eine vollständige Sedimentation innerhalb von nur 2 Minuten (Abbildung 3.28).

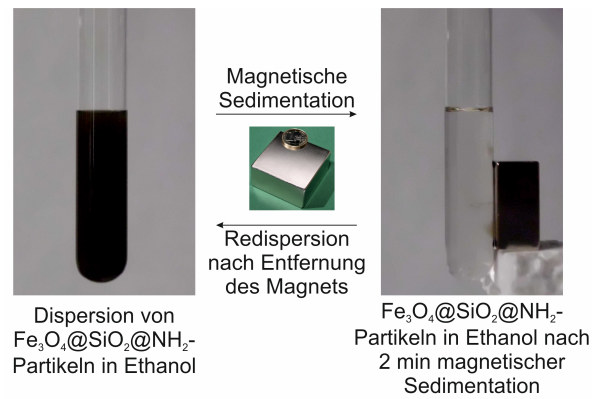


Abbildung 3.28. Magnetische Sedimentation von $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{SiO}_2@\text{NH}_2$ -Partikeln in Ethanol.

Ein Nachweis dafür lieferte die Messung der Trübung einer Dispersion der $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{SiO}_2@\text{NH}_2$ -Nanopartikel in Ethanol über die Zeit bei angelegtem Magnetfeld mit Hilfe von UV-Spektroskopie bei 600 nm (Abbildung 3.29).

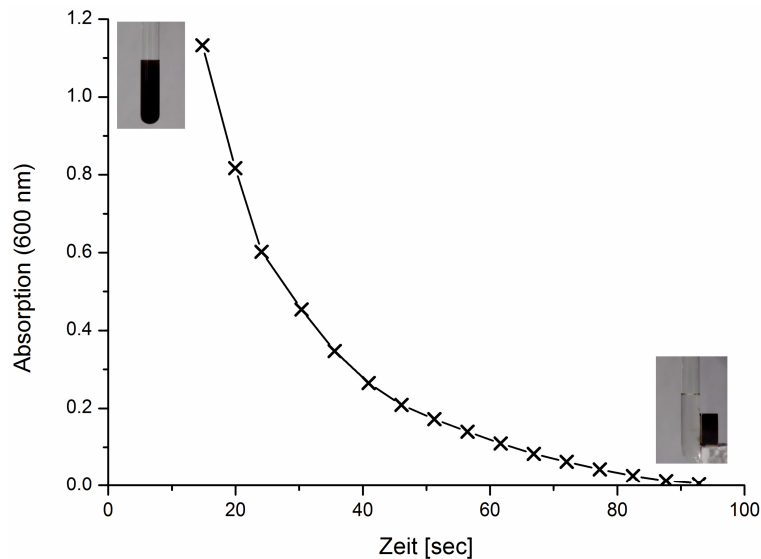


Abbildung 3.29. Messung der Trübung bei magnetischer Sedimentation von $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{SiO}_2@\text{NH}_2$ -Partikeln in Ethanol.

Einfaches Schütteln nach Entfernung des externen Magnetfeldes ermöglicht eine Redispersion der Partikel im jeweiligen Lösungsmittel. Auf die Verwendung von Ultraschall während des Dispergierens oder während der Reaktionen sollte generell verzichtet werden, um eine zusätzliche Agglomeration der Partikel zu vermeiden, da Ultraschall zwar kurzfristig eine gute Dispersion liefert, gleichzeitig aber eine nachfolgende Agglomeration fördert.^[258]

3.5 Organische Funktionalisierung

3.5.1 Spacermoleküle und Rink-Amid-Linker

Um Peptide nach einer Festphasensynthese vom Trägermaterial abspalten zu können, ist ein definierter Linker erforderlich (siehe Abschnitt 2.1.3). Für die SPPS an den hergestellten $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{SiO}_2@\text{NH}_2$ -Nanopartikel wurde ein Rink-Amid-Linker gewählt, der auch häufig in automatisierten Peptidsynthesen unter Verwendung von Fmoc-geschützten α -Aminosäuren eingesetzt wird.^[249] Zusätzlich sollte ein unvorteilhafter Kontakt zwischen Peptiden und Silica-Oberfläche minimiert werden, der sich nachteilig auf die Kupplungsausbeuten auswirken könnte. Dazu wurden zunächst zwei β -Alanin-Moleküle über Standard-Fmoc-Kupplung an freie Amino-Funktionen auf der Silica-Oberfläche geknüpft (Abbildung 3.30 A). β -Alanin wird auch oft als Spacer in der von Ronald Frank etablierten SPOT-Synthese an die Cellulosemembran gekuppelt, die dabei als feste Phase dient.^[28, 268]

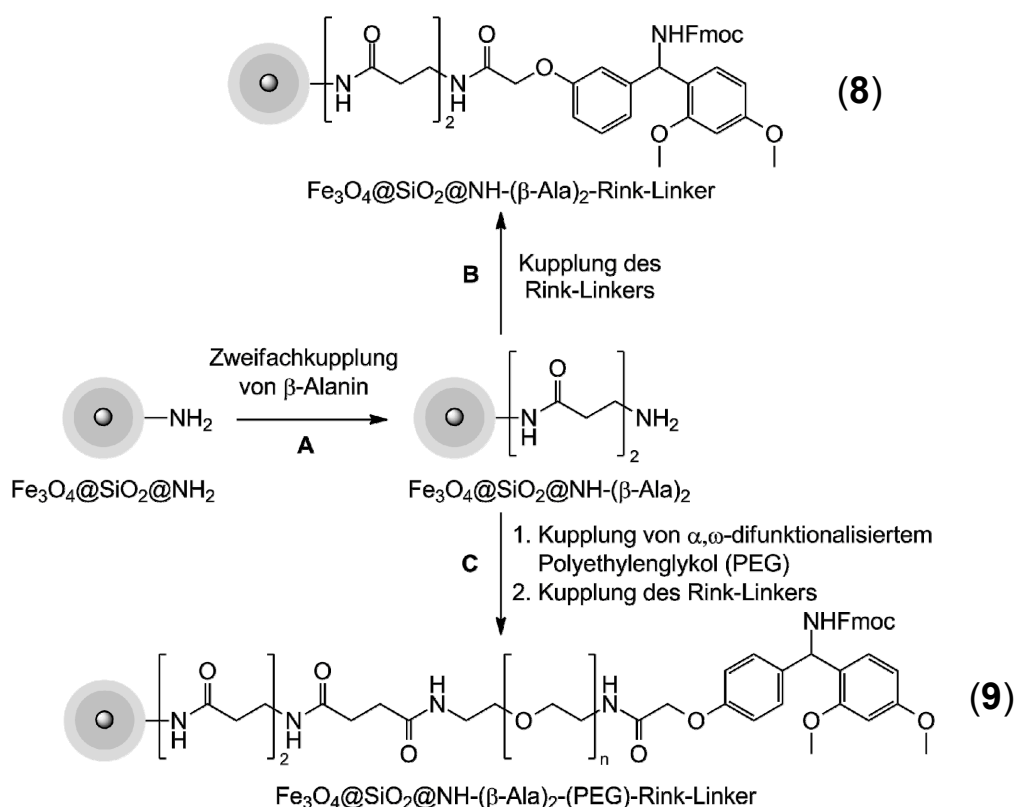


Abbildung 3.30. Synthesestrategie zu $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{SiO}_2@\text{NH}-(\beta\text{Ala})_2$ -Rink-Linker-Partikeln (8) und $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{SiO}_2@\text{NH}-(\beta\text{Ala})_2\text{-(PEG)-Rink-Linker}$ -Partikeln (9).

In der hauptsächlich verwendeten Variante der Spacer-Moleküle erfolgte nun die Kupplung eines Fmoc-geschützten Rink-Amid-Linkers (B), an dessen N-Terminus später das Peptid aufgebaut wurde. Bei den Kupplungen wurde bereits erfolgreich das System der magnetischen Sedimentation angewendet, wie es auch in der letztendlich Peptidsynthese

angedacht war. Die Kupplungen erfolgten unter Verwendung von Benzotriazol-1-yl-oxytripyrrolidinophosphoniumhexafluorophosphat (PyBOP) und Diisopropylamin (DIPEA) in NMP. FT-IR-Spektroskopie lieferte charakteristische Amid-Banden bei 1672 cm^{-1} und 1548 cm^{-1} . Durchgeführte Röntgenweitwinkelstreuungs-Messungen (WAXS) an den Partikeln entsprechen dem berechneten Magnetit-Muster und zeigen, dass die mehrfachen Kupplungs- und Waschschrte die Kristallstruktur des Kerns nicht verändert (Abbildung 3.31).

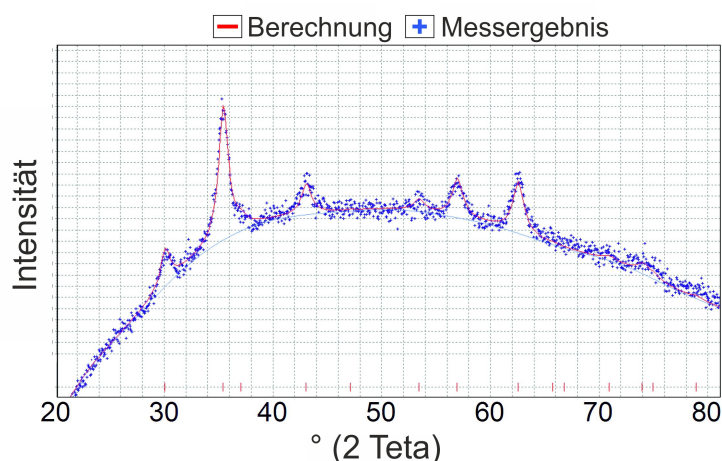


Abbildung 3.31. WAXS-Spektrum von $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{SiO}_2@\text{NH}-(\beta\text{Ala})_2@\text{Rink-Linker}$ -Partikeln im Vergleich zu berechneten Signalen von Magnetit. Die Größe der Magnetit-Kristalle wurde mittels Scherrer-Gleichung auf 9 nm bestimmt.

In einer zweiten Variante wurde als zusätzliche Spacer-Einheit α,ω -difunktionalisiertes Polyethylenglykol (PEG, $M=3300\text{ g/mol}$) nach den zwei β -Alanin-Einheiten gekuppelt, bevor anschließend ebenfalls ein Fmoc-geschützter Rink-Amid-Linker an das PEG-Ende geknüpft wurde (**C**). Dies erfolgte ebenfalls über die bereits erwähnte Kupplungsstrategie. Die Kupplung der mit 3300 g/mol sehr großen PEG-Moleküle verlief nur in einer Ausbeute von ca. 20%, was sich auch im letztendlich geringen Beladungsgrad von $\sim 0.02\text{ mmol/g}$ vor Beginn der Peptidsynthese widerspiegelt. Verbleibende freie Amino-Funktionen wurden unter Verwendung von Acetanhydrid deaktiviert, damit diese nicht mit eingesetzten Aminosäure-Derivaten reagieren. Tabelle 3.2 stellt die Beladungswerte nach den Kupplungen gegenüber:

Tabelle 3.2. Beladungswerte von $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{SiO}_2@\text{NH}_2$ -Nanopartikeln vor und nach der Kupplung von Spacer-Molekülen (β -Alanin, α,ω -difunktionalisiertes PEG_{3300}) und anschließender Rink-Linker-Verknüpfung.

Partikel	Beladung [mmol/g]
$\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{SiO}_2@\text{NH}_2$	0.11
$\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{SiO}_2@\text{NH}-(\beta\text{Ala})_2\text{-Rink-Linker-Partikel}$	0.08
$\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{SiO}_2@\text{NH}-(\beta\text{Ala})_2\text{-(PEG)-Rink-Linker-Partikel}$	0.02

An den Werten ist deutlich zu erkennen, dass die Kupplung des Polyethylenglykol-Spacers zu einer starken Verringerung des Beladungswertes führt. Dies ist aufgrund der Molekülgröße aber auch zu erwarten. Die Kupplung der zwei β -Alanin-Moleküle dagegen führt zu weniger Verlusten in der Beladung. Aufgrund des hohen Beladungsverlustes ist die Verwendung des Polyethylenglykol-Spacers unattraktiv. Allerdings könnten sich Vorteile bei einer Peptidsynthese von schwierigen Sequenzen ergeben, da der Abstand des Rink-Linkers zur Partikeloberfläche wesentlich höher ist im Vergleich zu den β -Alanin-Molekülen. In Peptidsynthesen wurden aufgrund des höheren Beladungsgrades die hergestellten $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{SiO}_2@\text{NH}-(\beta\text{Ala})_2$ -Rink-Linker-Partikel als feste Phase eingesetzt.

3.6 Strategien zur Erhöhung der Konzentration der Amino-Funktionalitäten

3.6.1 Konzentrationserhöhung durch mehrfache Lysin-Kupplung

Der höchste Beladungswert der $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{SiO}_2@\text{NH}_2$ -Nanopartikel lag wie erwähnt bei 0.11 mmol/g. Da die Werte von handelsüblichen Tentagel®-Synthese-Harzen zwischen 0.14 und 0.27 mmol/g liegen, wurde eine Erhöhung derselben angestrebt. In Zusammenarbeit mit Felix Gandor wurden dabei zwei Konzepte verfolgt, die an MagSilica@ NH_2 -Partikeln durchgeführt wurden. In der ersten Variante wurde Lysin dreimal an die Partikel gekuppelt (Abbildung 3.32).

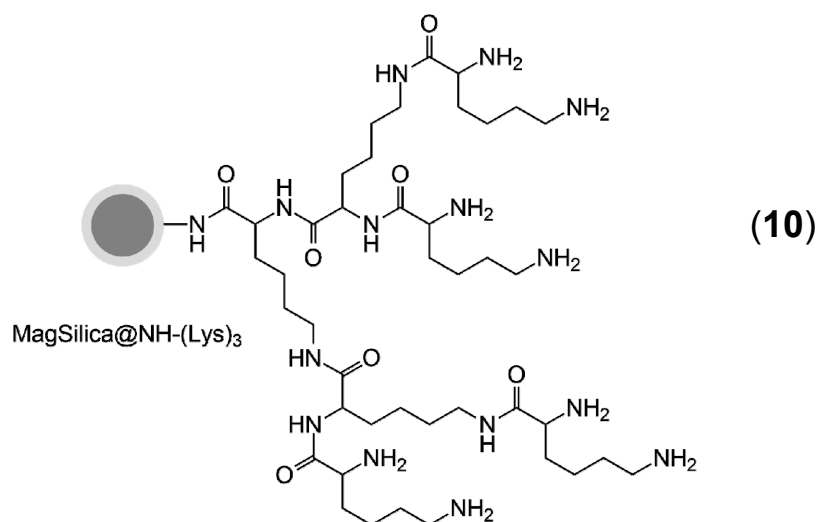


Abbildung 3.32. Struktur von MagSilica@NH-(Lys)₃-Partikeln.

Das eingesetzte Aminosäure-Derivat des Lysins ist dabei sowohl am *N*-Terminus, als auch an der Amino-Funktion der Seitenkette mit einer Fmoc-Schutzgruppe versehen. Bei Abspaltung derselben werden somit zwei Amino-Funktionen zugänglich, die theoretisch für weitere Reaktionen zur Verfügung stehen. Die Fmoc-Abspaltlösungen wurden analog dem Fmoc-Glycin-Test UV-spektroskopisch analysiert. Dabei wurden folgende Aminobeladungen der Partikel ermittelt (Tabelle 3.3).

Tabelle 3.3. Oberflächenbeladungen Fmoc-Lys(Fmoc)-OH-gekuppelter MagSilica@ NH_2 -Partikel.

Kupplung mit Fmoc-Lys(Fmoc)-OH	Beladung [mmol/g]
I	0.10
II	0.14
III	0.19

Es ist zu erkennen, dass Fmoc-Lys(Fmoc)-OH trotz Aktivierung mit PyBOP und DIPEA nur mäßig an die MagSilica@NH₂-Partikel kuppelt. Ausgehend von einer Grundbeladung der MagSilica@NH₂-Partikeln von 0.10 mmol/g wurde diese nach der dritten Kupplung auf 0.19 mmol/g fast verdoppelt. Fmoc-Lys(Fmoc)-OH ist eine große, sterisch relativ anspruchsvolle Aminosäure. Die unvollständigen Kupplungen weisen indirekt auf teilweise schwer zugängliche Amino-Funktionen auf der Partikeloberfläche hin, sodass möglicherweise nicht alle Amino-Funktionen effektiv für eine Peptidsynthese genutzt werden können. Eine mögliche Erklärung liefert die Oberflächenbeschaffenheit der jeweiligen Partikel. Abbildung 3.33 zeigt zwei SEM-Aufnahmen von Fe₃O₄@SiO₂- (a) und Fe₃O₄@SiO₂@NH₂-Nanopartikeln (b).

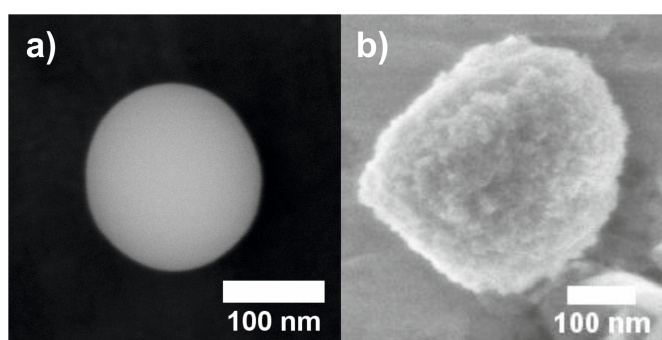


Abbildung 3.33. SEM-Aufnahmen eines Fe₃O₄@SiO₂-Partikels (a) und eines Fe₃O₄@SiO₂@NH₂-Partikels (b).

Das durch TEOS gebildete Silica-Netzwerk scheint geschlossener zu sein als das durch APTMS gebildete. Grund dafür könnte der Unterschied des Prekursors sein, der nur drei Hydroxy-Funktionen pro Si-Atom zum Aufbau des Netzwerks besitzt. Die Oberfläche zeigt nach Funktionalisierung ein amorphes Silica-Netzwerk mit einer hohen Porendichte. Amino-Funktionen, die im gebildeten Netzwerk nur schwer zugänglich sind, können von der sterisch anspruchsvollen Aminosäure Fmoc-Lys(Fmoc)-OH eventuell nicht erreicht werden, sodass der Kupplungsumsatz im Vergleich zu einer sterisch weniger anspruchsvollen Aminosäure, zum Beispiel Glycin, geringer ausfällt. Die gut zugänglichen Amino-Funktionen können dagegen leicht mit der multiplen Kupplung von Lysin vervielfältigt werden, wobei aber viele Amino-Funktionen in räumlicher Nähe gebildet werden (Abbildung 3.32).

Eine Analyse des Zeta-Potentials der Lysin-funktionalisierten Partikel ergab einen Wert von $\xi = +28.7$ mV, welcher sich nur geringfügig vom Wert der eingesetzten MagSilica@NH₂-Partikel unterscheidet. Die Intensität der Alkyl- und Amin-Banden ist im FT-IR-Spektrum der Lysin-funktionalisierten Partikel deutlich erhöht. Weiterhin auffällig ist eine intensive Bande einer Amid-Bindung bei 3285 cm⁻¹.

Durch das Konzept der dreifachen Lysin-Kupplung, konnte die Konzentration der Amino-Funktionalitäten auf MagSilica@NH₂-Partikeln von 0.10 mmol/g auf 0.19 mmol/g erhöht werden.

3.6.2 Konzentrationserhöhung durch Polyethylenimin

In einem zweiten Konzept zur Erhöhung der Konzentration der Amino-Funktionalitäten wurde in Zusammenarbeit mit Felix Gandor die Möglichkeit der Kupplung von Polyethylenimin (PEI) auf die Oberfläche der MagSilica@NH₂-Partikel untersucht. Dieses Polymerisationsprodukt des Ethylenimins verfügt über einen hohen Anteil an primären, sekundären und tertiären Aminen. Abbildung 3.34 zeigt den Synthesepfad zur Oberflächenmodifizierung mit PEI.

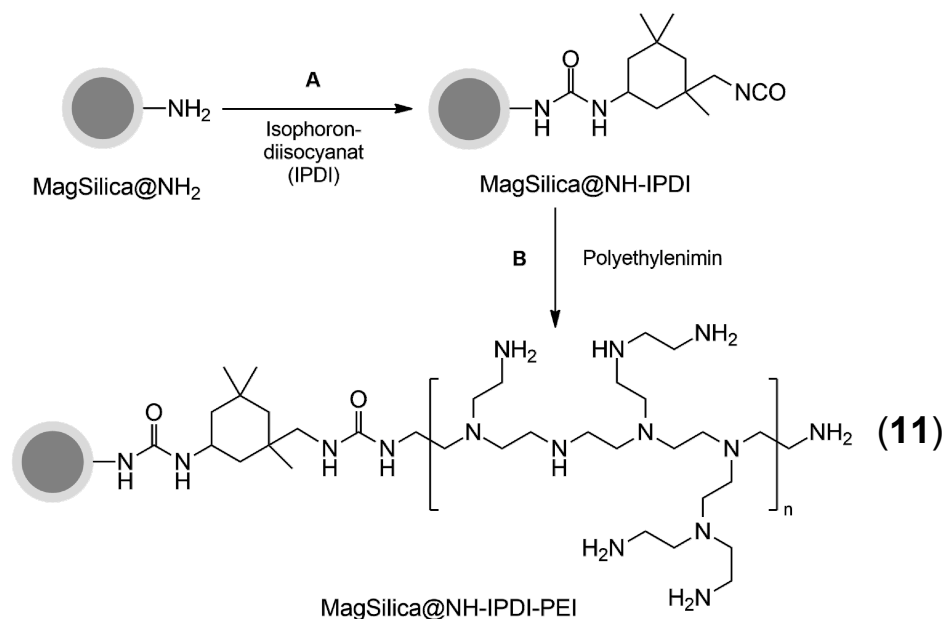


Abbildung 3.34. Synthesekonzept zur Kupplung von Polyethylenimin (PEI) an MagSilica@NH₂-Partikel.

Zunächst wurden die Amino-Funktionen auf der Partikeloberfläche mit Isophorondiisocyanat (IPDI) gekuppelt und somit in reaktive Isocyanat-Funktionen konvertiert (A). Die Amino-Funktionen der Partikel greifen dabei nukleophil an das aktivierte Carbonyl-C-Atom der Isocyanat-Gruppe an und es kommt zur Ausbildung eines Harnstoff-Derivats. Im zweiten Reaktionsschritt (B) verläuft die Kupplung des PEI analog an die zweite Isocyanat-Gruppe und generiert somit eine Vielzahl freier Amino-Funktionen. Bei der Synthese wurde eine Dispersion der MagSilica@NH₂-Partikel in trockenem Dimethylsulfoxid (DMSO) mit IPDI versetzt und für 30 min geschüttelt. Ein durchgeführter Kaiser-Test ^[269] zeigte keine freien Amino-Funktionen nach der Reaktion. Das Zeta-Potential änderte sich von $\xi = +28.4$ mV auf $\xi = +34.2$ mV für MagSilica@NH-IPDI-Partikel. Der Anstieg deutet auf eine zusätzliche Abschirmung der Silica-Oberfläche durch das gekuppelte IPDI hin. FT-IR-Spektren zeigten charakteristische Carbamid-Banden bei 1644 cm⁻¹ und 1563 cm⁻¹ und eine Alkyl-Bande bei 2956 cm⁻¹. EDX-Messungen registrierten einen Anstieg des Kohlenstoff- und Stickstoffanteils (Tabelle 3.4), was auf eine erfolgreiche IPDI-Kupplung hindeutet.

Im zweiten Reaktionsschritt wurden zur Vergleichsmöglichkeit jeweils drei verschiedene PEI-Molekularmassen (M = 800, 2000 und 25000 g/mol) an die generierten Isocyanat-Gruppen

geknüpft. Dafür wurden die MagSilica@NH-IPDI-Partikel in trockenem DMSO dispergiert und anschließend mit in DMSO gelöstem PEI versetzt. Ein durchgeführter Beladungstest zeigte für die PEI₈₀₀- und PEI₂₀₀₀-Systeme einen geringeren Beladungswert als die ursprünglich eingesetzten MagSilica@NH₂-Partikel (Tabelle 3.4).

Tabelle 3.4. Oberflächenbeladungen funktionalisierter Magsilica@NH-IPDI-PEI-Partikel.

Partikel	Beladung [mmol/g]		
	mehrstufige Synthese	Eintopf-Strategie	Eintopf-Strategie (IPDI-Überschuss)
MagSilica@NH-IPDI-PEI ₈₀₀	0.05	0.04	-
MagSilica@NH-IPDI-PEI ₂₀₀₀	0.05	0.08	-
MagSilica@NH-IPDI-PEI ₂₅₀₀₀	0.18	0.24	0.32

Nur das PEI₂₅₀₀₀-System zeigt mit 0.18 mmol/g einen erhöhten Konzentrationswert an Amino-Funktionen. Es wurde vermutet, dass bei der schrittweisen Kupplung von IPDI und PEI eine hohe Anzahl der reaktiven Isocyanat-Gruppen mit freien Amino-Funktionen von bereits gebundenen PEI-Molekülen reagieren und somit intramolekulare Verbrückungen entstehen, welche den Konzentrationswert der freien Amino-Funktionen zusätzlich minimiert. Als Alternative wurde eine Eintopfreaktion vorgeschlagen, in der zunächst das IPDI und anschließend das PEI im Überschuss zur Dispersion der MagSilica@NH₂-Partikel in trockenem DMSO gegeben wurde. Dadurch konnten die Beladungswerte der PEI₂₀₀₀- und PEI₂₅₀₀₀-Systeme deutlich erhöht werden. Mit 0.24 mmol/g liegen die MagSilica@NH-IPDI-PEI₂₅₀₀₀-Partikel sogar im oberen Beladungsbereich von Tentagel®-Harzen. Dieser Wert konnte mit einem Überschuss an IPDI im System sogar auf 0.32 mmol/g erhöht werden. Die erfolgreiche Kupplung von PEI kann gut mit FT-IR-Spektroskopie nachvollzogen werden, da typische Absorptionsbanden bei 3327 cm⁻¹ für primäre Amine und eine starke Zunahme der Carbamid-Bande bei 1674 cm⁻¹ detektiert werden konnten (Abbildung 3.35).

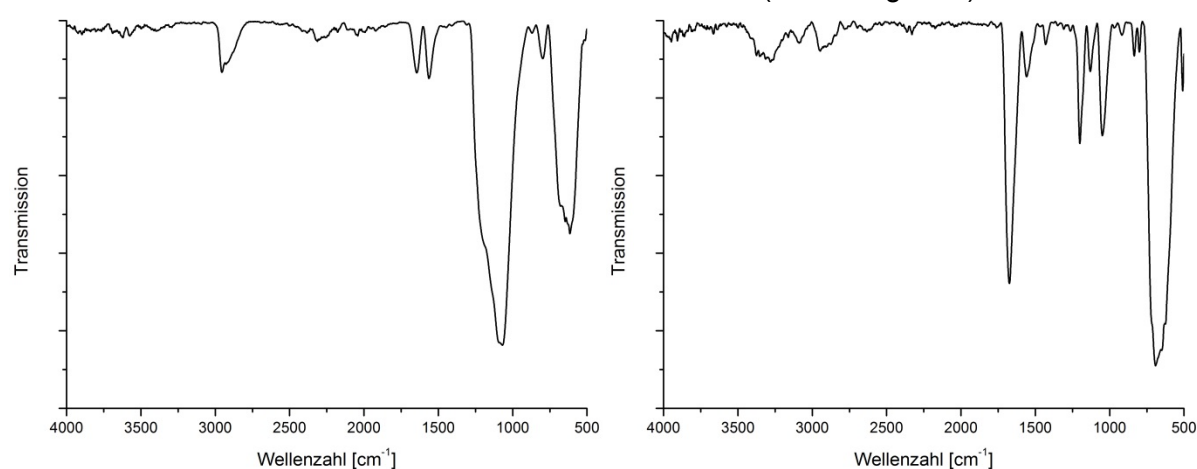


Abbildung 3.35. FT-IR-Spektren von MagSilica@NH-IPDI- (links) und MagSilica@NH-IPDI-PEI-Partikeln (rechts).

EDX-Messungen zeigten nach dem PEI-Kupplungsschritt einen starken Anstieg des Kohlenstoff- und leichten Anstieg des Stickstoffgehaltes (Tabelle 3.5). Durch den qualitativen Nachweis durch Anstieg an C- und N-Anteilen wird eine erfolgreiche Funktionalisierung ebenfalls bestätigt. Allerdings kann mit den EDX-Messungen nur eine qualitative Aussage getroffen werden, da die Nachweisgrenze für Elemente mit einer Ordnungszahl < 10 dramatisch schlechter wird.

Tabelle 3.5. Energie-dispersive-Röntgen-Spektroskopie-Messung (EDX): Elementare Zusammensetzung nach Hintergrundkorrektur von MagSilica-, MagSilica@NH₂-, MagSilica@NH-IPDI- und MagSilica@NH-IPDI-PEI-Nanopartikel,

Partikel	O	Fe	Si	C	N
MagSilica	39%	48%	13%	n.d.*	n.d.*
MagSilica@NH ₂	37%	32%	9%	18%	4%
MagSilica@NH-IPDI	27%	38%	11%	20%	4%
MagSilica@NH-IPDI-PEI ₂₅₀₀₀	27%	19%	5%	43%	6%

*n.d.=nicht detektiert

Das Zeta-Potential sank leicht für MagSilica@NH-IPDI-PEI-Partikel auf $\xi = +31.5$ mV. Dies ist ungewöhnlich, da durch Erhöhung der Konzentration der Amino-Funktionen an der Partikeloberfläche und der gleichzeitigen zusätzlichen Abschirmung des Silica-Netzwerks eher eine Erhöhung des Zeta-Potentials erwartet wird.

Die Partikel wurden während der Synthesen ebenfalls durch ein starkes externes Magnetfeld sedimentiert. Eine vollständige Sedimentation der MagSilica@NH-IPDI-PEI₂₅₀₀₀-Partikel gelang innerhalb von nur 3 Minuten. Ein Nachweis dafür lieferte die Messung der Trübung einer Dispersion der Partikel in Ethanol über die Zeit bei angelegtem Magnetfeld mit Hilfe von UV-Spektroskopie bei 600 nm (Abbildung 3.36).

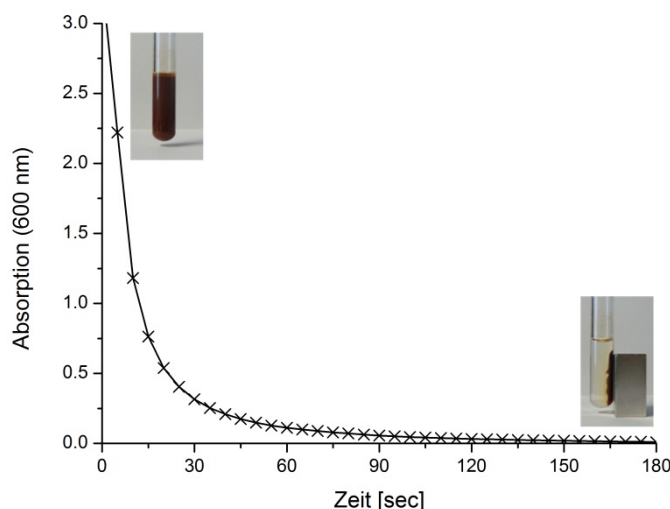


Abbildung 3.36. Messung der Absorption bei magnetischer Sedimentation von MagSilica@NH-IPDI-PEI₂₅₀₀₀-Partikeln in Ethanol.

Durch Schütteln nach Entfernung des externen Magnetfeldes kann auch hier eine einfache Redispersion der Partikel im jeweiligen Lösungsmittel erreicht werden. Um eine ausreichende Stabilität während Peptidsynthesen nachzuweisen, wurden auch hier Stabilitätstests mit den Partikeln jeweils in einer Lösung aus TFA/DCM (1:1) und in einer Lösung aus Piperidin/NMP (1:4) durchgeführt. Abbildung 3.37 zeigt die UV-spektroskopischen Absorptionswerte der einzelnen Lösungen bei 420 nm nach magnetischer Sedimentation im sauren Medium (links) und im basischen Medium (rechts).

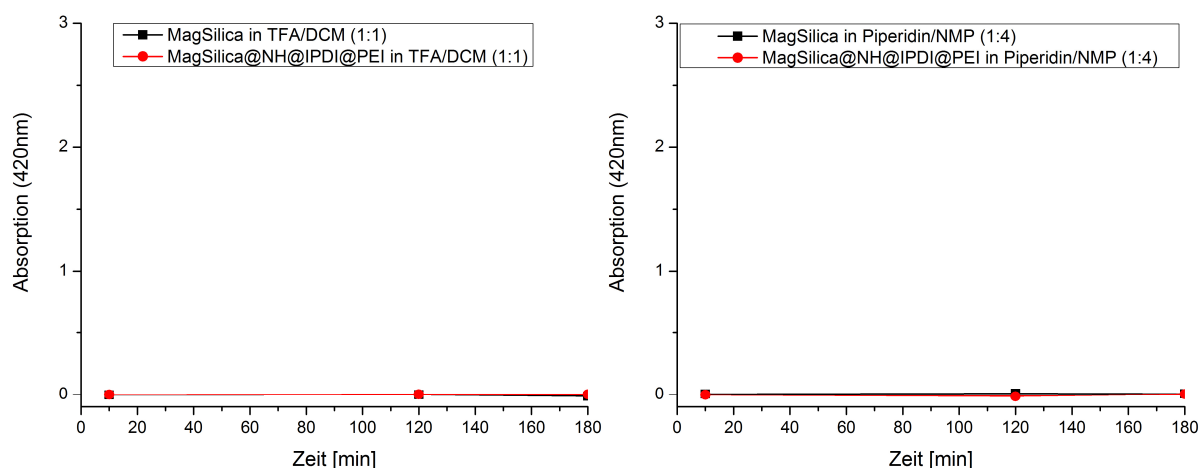


Abbildung 3.37. UV-Absorptionswerte ($\lambda=420$ nm) der Stabilitätstests von MagSilica- und MagSilica@NH-IPDI-PEI-Partikeln in einer Lösung aus TFA in DCM (1:1) (links) und in einer Lösung aus Piperidin in NMP (1:4) (rechts).

Die MagSilica@NH-IPDI-PEI₂₅₀₀₀-Partikel zeigten in beiden Lösungen eine sehr gute Stabilität über mindestens drei Stunden und können somit theoretisch in einer Peptidsynthese eingesetzt werden. Allerdings sind weitere Analysen notwendig, um Erklärungen für die nicht erwarteten Konzentrationserniedrigungen bei den PEI₈₀₀- und PEI₂₀₀₀-Systemen finden. Zwar war die Konzentrationserhöhung für MagSilica@NH-IPDI-PEI₂₅₀₀₀-Partikel letztendlich erfolgreich, allerdings sind auch dort die Beladungswerte geringer ausgefallen als erwartet. Zudem ist der genaue Aufbau der organischen Schale noch unklar. Weitere Optimierungen sind somit in allen Systemen erforderlich. Nach den gezeigten Stabilitätstests wurden die MagSilica@NH-IPDI-PEI₂₅₀₀₀-Partikel in einer Peptidsynthese eingesetzt.

4. Festphasenpeptidsynthese an superparamagnetischen $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{SiO}_2@\text{NH}_2$ -Nanopartikeln

4.1 Allgemeine Synthesestrategie

Um eine Peptidsynthese an Amino-funktionalisierten Partikeln nach der Fmoc-Strategie zu ermöglichen, muss ein geeigneter Linker zur Abspaltung der Moleküle eingeführt werden. Die Wahl fiel auf den Rink-Amid-Linker (Abbildung 4.1), an dessen freier Amin-Funktion das Peptid mit Hilfe von Fmoc-geschützten α -Aminosäure-Bausteinen aufgebaut wird. Die Einführung desselben nach Kupplung von Spacer-Molekülen wurde bereits beschrieben.

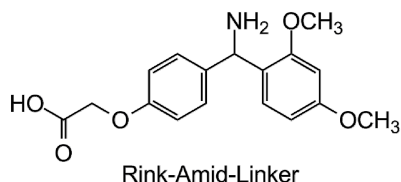


Abbildung 4.1. Struktur eines Rink-Amid-Linkers, an dessen Amino-Funktion der Aufbau eines Peptids möglich ist, welches anschließend unter sauren Bedingungen abgespalten werden kann.

Anschließend kann an den jeweiligen Kern-Schale-Partikeln der Aufbau von Peptiden erfolgen. Für die Synthese der jeweiligen Peptidsequenzen an den Amino-funktionalisierten Partikeln wurde die Fmoc/*t*Bu-Strategie angewendet.^[270] Diese verwendet die basenlabile Fmoc-Schutzgruppe als temporäre Schutzgruppe für den *N*-Terminus des Peptids sowie säurelabile Schutzgruppen (*t*Bu, Trt, etc.) für die Seitenkettenfunktionalitäten der Aminosäuren.

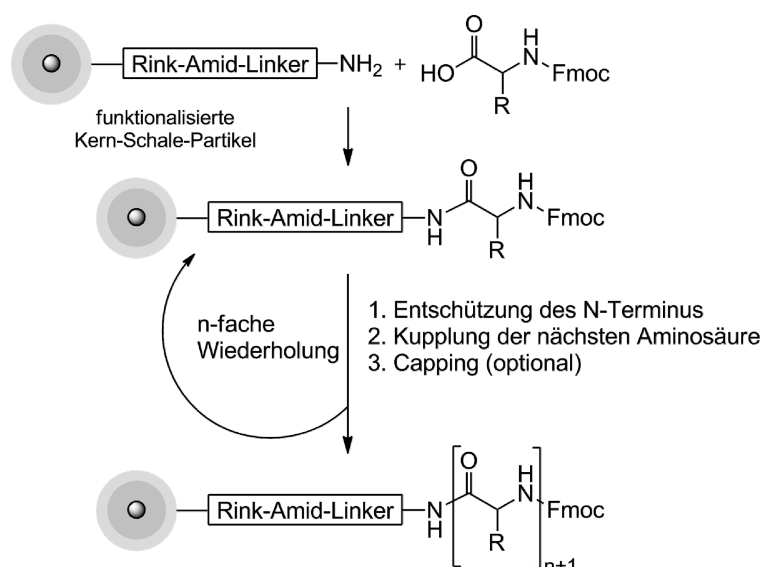


Abbildung 4.2. Fmoc-Synthesestrategie an Amino-funktionalisierten Kern-Schale-Partikeln.

In jedem Synthesesyklus (Abbildung 4.2) wurde zunächst die Fmoc-Schutzgruppe durch ein Piperidin/DMF-Gemisch (1:4) abgespalten und im Anschluss das α -Aminosäurederivat an die freien Amino-Funktionen auf den Partikeln gekuppelt. Zur Voraktivierung der Aminosäuren wurde Benzotriazol-1-yl-oxytripyrrolidinophosphoniumhexafluorophosphat (PyBOP) in Gegenwart von Diisopropylethylamin (DIPEA) verwendet. Ein Capping nach jeder Kupplung, welches eine Acetylierung und somit Deaktivierung von noch freien Amino-Funktionen zur Folge hätte, wurde optional unter Verwendung von 5% Acetanhydrid und 6% 1,4-Lutidin in NMP durchgeführt. Die Abtrennung der Partikel vom jeweiligen Lösungsmittel bzw. von der Waschlösung erfolgte ausnahmslos über magnetische Sedimentation. Zur Abspaltung des synthetisierten Peptids vom Linker bzw. Trägermaterial wurden die Partikel zweimal für jeweils eine Stunde einer Lösung TFA/DCM (1:1) ausgesetzt. Die Abspaltlösung wurde von den Partikeln getrennt und eingeeengt. Die Isolierung und Reinigung des Produkts erfolgte durch mehrfaches Ausfällen in kaltem Diethylether.

4.2 Festphasenpeptidsynthese an $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{SiO}_2@\text{NH}_2$ -Nanopartikeln

Die vorgestellten $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{SiO}_2@\text{NH}_2$ -Nanopartikel wurden nach erfolgreichen Stabilitätstests als Trägermaterial in einer festphasengebundenen Peptidsynthese eingesetzt. Dabei lag der Fokus auf Reinheit und Ausbeute im Vergleich zu etablierten Synthescharzen. Als Zielsequenz wurde ein Teilstück einer Peptidsequenz gewählt, die in Muschelklebern für eine Haftwirkung auf Oberflächen verantwortlich gemacht wird:^[271]



Die Synthese erfolgte unter den bereits beschriebenen Bedingungen. Nach Isolierung und Reinigung des Produkts wurden nach mehrfachem Ausfällen in kaltem Diethylether 1.9 mg Peptid mit einer Ausbeute von ca. 70% erhalten, wobei die Reinheit nach HPLC-ESI-MS-Messung bemerkenswerte 95% betrug (Abbildung 4.3).

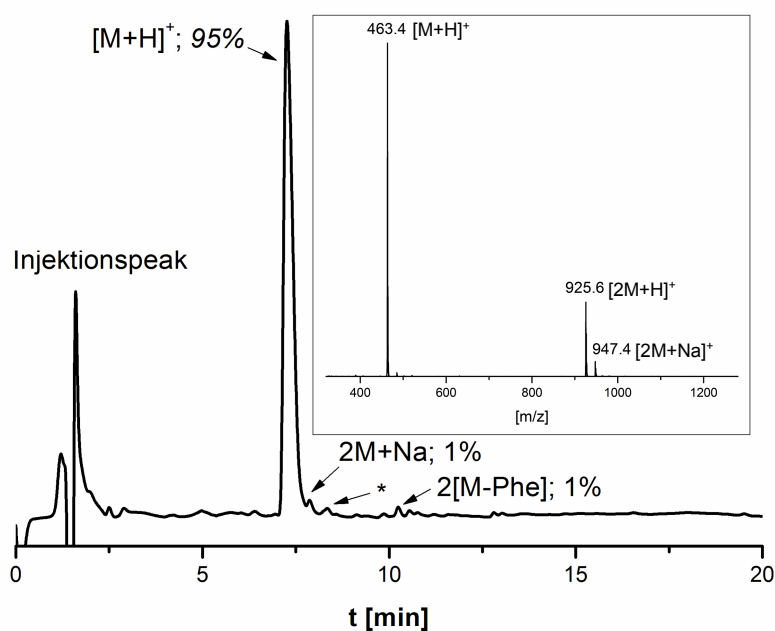


Abbildung 4.3. HPLC-Spur des an $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{SiO}_2@\text{NH}_2$ -Nanopartikeln synthetisierten Peptids $\text{H}_2\text{N-Phe-Lys-Leu-Gly-CONH}_2$ (M = 462.29 g/mol) mit eingefügtem ESI-MS des Hauptprodukt-Peaks. (Gradient: 3-50% Acetonitril, RP-C18-Säule, $\lambda=220$ nm). Zielsequenz mit 95% Reinheit, Abbruchsequenz in sehr geringer Konzentration. (*) = keine Masse detektierbar.)

Die erste Abbruchsequenz $\text{H}_2\text{N-Lys-Leu-Gly-CONH}_2$ konnten nur in sehr geringer Konzentration nachgewiesen werden (ca. 1%). Ein ESI-MS-Spektrum des gesamten Produkts bestätigte ebenfalls die erfolgreiche Synthese der Zielsequenz, sowie die der ersten Abbruchsequenz. $^1\text{H-NMR}$ -Analyse zeigte die erwarteten Signale des synthetisierten

Peptids, u.a. charakteristische für das Arylsystem des Phenylalanins in der Sequenz zwischen 7.46-7.29 ppm (Abbildung 8.12).

Die Ergebnisse bestätigen, dass superparamagnetische $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{SiO}_2@\text{NH}_2$ -Nanopartikel als Trägermaterial für eine festphasengebundene Synthese von Peptidsequenzen eingesetzt werden können. Herausragend ist vor allem die hohe Reinheit des Produkts, die mit 95% einen vergleichbaren Wert zu etablierten Syntheseharzen aufweist.^[249] Die Ausbeute des Zielprodukts mit ~70% liegt bei einer Anzahl von vier Aminosäuren in der Sequenz in einem guten Bereich. Im Vergleich zu automatisierten festphasengebundenen Synthesen, die beispielsweise mit Polystyrol-Harzen als Trägermaterial Werte über 90% bei ähnlichen Sequenzen aufweisen,^[14, 249, 270] ist dieser Wert allerdings noch optimierbar. Nichtsdestotrotz konnte nachgewiesen werden, dass superparamagnetische $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{SiO}_2@\text{NH}_2$ -Nanopartikel eine sehr gute Alternative als Trägermaterial für eine festphasengebundene Synthese von Peptidsequenzen im Vergleich zu etablierten Syntheseharzen auf Polymerbasis darstellen.

Nach der erfolgreichen Synthese eines Petids von vier Aminosäuren wurde der Aufbau einer Sequenz mit einer höheren Anzahl an Aminosäuren an den $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{SiO}_2@\text{NH}_2$ -Nanopartikeln geplant. Dazu wurde in einem Forschungspraktikum³ als Zielsequenz ein Abschnitt einer WW-Proteindomäne des humanen Yes-Kinase verbundenen Proteins (hYAP, Abbildung 4.4) ausgewählt.^[272-273] WW-Domänen sind ca. 40 Aminosäuren lange Proteinmodule, die Protein-Protein-Wechselwirkungen vermitteln. Die ausgewählte Domäne bindet an prolinreiche Sequenzen der SH3-Domäne der Yes-Kinase und umfasst eine Länge von insgesamt 35 Aminosäuren. Die Struktur zeigt ein kompaktes, dreisträngiges, antiparalleles β -Faltblatt, das eine flache Bindungstasche für die prolinhaltigen Liganden bildet. Die β -Stränge des Faltblattes sind jeweils durch kurze Loop-Abschnitte (Turn-Regionen) verbunden.

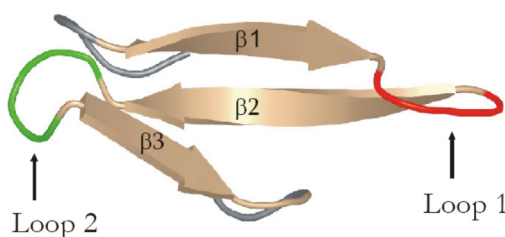


Abbildung 4.4. Struktur der hYAP-WW-Domäne.^[272-273]

Die Zielsequenz umfasst 11 Aminosäuren, die nach der beschriebenen Fmoc-Synthesestrategie nacheinander an den Rink-Amid-Linker auf den $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{SiO}_2@\text{NH}_2$ -Nanopartikeln gekuppelt wurden:

³ Forschungspraktikum Franziska Fischer, HU Berlin, August-September 2011

$\text{H}_2\text{N-Gln-Thr-Thr-Thr-Trp-Gln-Asp-Pro-Arg-Lys-Gly-CONH}_2$ ($M = 1315.66 \text{ g/mol}$) (**13**)

Die Synthese erfolgte unter den bereits beschriebenen Bedingungen. Nach Isolierung und Reinigung des Produkts wurde der erhaltene Feststoff mithilfe von HPLC-ESI-MS- und MALDI-MS-Messungen analysiert. Es wurden 3.5 mg Peptid mit einer Ausbeute von ca. 48% erhalten. Die Zielsequenz konnte mit einer sehr hohen Reinheit von 85% nach HPLC-ESI-MS-Messung synthetisiert werden (Abbildung 4.5).

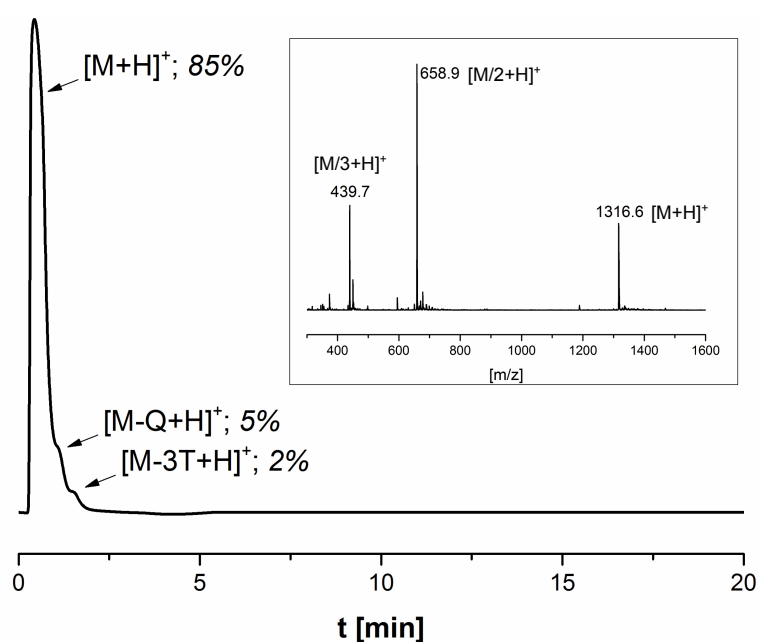


Abbildung 4.5. HPLC-Spur des an $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{SiO}_2@\text{NH}_2$ -Nanopartikeln synthetisierten Peptids $\text{H}_2\text{N-Gln-Thr-Thr-Thr-Trp-Gln-Asp-Pro-Arg-Lys-Gly-CONH}_2$ ($M = 1315.66 \text{ g/mol}$) mit eingefügtem ESI-MS des Hauptprodukt-Peaks. (Gradient: 0-30 % Acetonitril, RP-C18-Säule, $\lambda=220 \text{ nm}$). Zielpeptid mit 85% Reinheit, Abbruchsequenzen in sehr geringer Konzentration.

In HPLC-Messungen konnte das Peptid nach kurzer Retentionszeit als erstes Signal detektiert werden. ESI-MS-Analytik des Hauptprodukt-Peaks weist eindeutig auf die Zielsequenz hin. In geringen Konzentrationen folgen die Abbruchsequenzen $\text{H}_2\text{N-Thr-Thr-Thr-Trp-Gln-Asp-Pro-Arg-Lys-Gly-CONH}_2$ (5%) und $\text{H}_2\text{N-Trp-Gln-Asp-Pro-Arg-Lys-Gly-CONH}_2$ (2%). Die Veränderung des Gradienten ergab keine eine Verlängerung der Retentionszeiten und somit keine Verbesserung der Auflösung. Eine MALDI-ToF-MS-Messung weist das Produkt, wie auch die Abbruchsequenzen nach. In dem entsprechenden Spektrum entspricht das Signal des Peptids bei $m/z 1316.6$ dem Signal mit der höchsten Intensität (Abbildung 4.6). Außerdem sind zwei Abbruchsequenzen $m/z 1188.6$ und $m/z 927.8$ zu finden, welche bereits in den gezeigten HPLC-ESI-MS-Messungen nachgewiesen wurden.

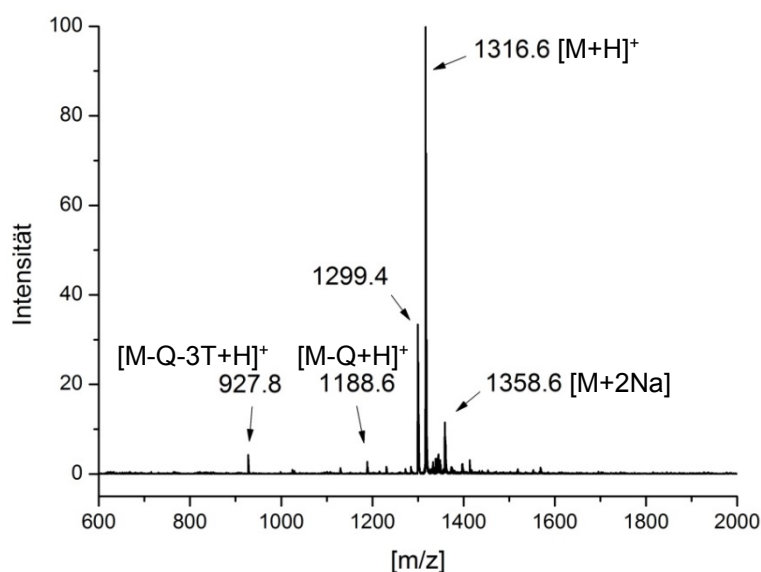


Abbildung 4.6. MALDI-ToF-MS des an $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{SiO}_2@\text{NH}_2$ -Nanopartikeln synthetisierten Peptids $\text{H}_2\text{N-Gln-Thr-Thr-Thr-Trp-Gln-Asp-Pro-Arg-Lys-Gly-CONH}_2$ ($M = 1315.66$ g/mol).

Die Analysen zeigen, dass auch Peptidsequenzen mit höherer Anzahl an Aminosäuren an den $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{SiO}_2@\text{NH}_2$ -Nanopartikeln synthetisiert werden können. Bemerkenswert ist auch hier die hohe Reinheit des Zielprodukts von 85%. Im Vergleich zu standardisierten SPPS-Trägermaterialien, die in automatisierten Festphasensynthesen eingesetzt werden, liegt dieser Wert im oberen Bereich.^[14, 249, 270] Die Ausbeute von 48% liegt für eine Sequenz mit elf Aminosäuren nach manueller Synthesestrategie ebenfalls in einem guten Bereich, allerdings erreichen die erwähnten automatisierten Systeme wesentlich höhere Werte.^[14, 249, 270] Da die Reinheit des Produkts trotz des Ausbeuteverlustes einen hohen Wert aufweist und Abbruchsequenzen wie gezeigt nur in geringen Mengen auftreten, wird ein Verlust des Trägermaterials während des Syntheseverlaufs vermutet. Die Partikel werden wie erwähnt nach jedem Wasch- und Kupplungsschritt magnetisch sedimentiert. Vermutet wird, dass beim Abgießen der Wasch- bzw. Reaktionslösungen trotz des starken Magneten eine geringe Menge der Partikel mitgerissen und somit entfernt wird. Pro Aminosäurekupplung werden allein 21 Sedimentationsschritte durchgeführt. Das macht für die Synthese des gezeigten Zielpeptids (11 Aminosäuren) mehr als 230 Sedimentationsschritte. Der Materialverlust würde sich demnach summieren und den Ausbeuteverlust erklären. Eine Optimierungsmöglichkeit wäre ein System mit einem schaltbaren, starken Magnetsystem an der gesamten Reaktorwand, wobei die Abtrennung des Lösungsmittels bzw. der Waschlösung automatisiert in der Reaktormitte stattfinden könnte, beispielsweise durch einen Pipettierroboter. Die hohe Reinheit der Produkte bei der Peptidsynthese verdeutlicht aber das enorme Potential der $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{SiO}_2@\text{NH}_2$ -Nanopartikel als ein neues Trägermaterial und macht eine Optimierung und Automatisierung hoch interessant. Im folgenden Kapitel wird am Beispiel einer Peptid-Polymer-Konjugat-Synthese der erwähnte Vorteil der Partikel in Bezug auf die Zugänglichkeit der funktionellen Gruppen diskutiert.

5. Synthese von Peptid-Polymer-Konjugaten an $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{SiO}_2@\text{NH}_2$ -Nanopartikeln

5.1 Synthesestrategie

Peptid-Polymer-Konjugate stellen eine vielseitige Klasse im Bereich der Biohybrid-Makromoleküle dar. Wie in Abschnitt 2.1.4 vorgestellt, gibt es verschiedene Synthesenvarianten zur Herstellung solcher Konjugate. Zur Verdeutlichung der besseren Zugänglichkeit der funktionellen Gruppen, wurden die hergestellten superparamagnetischen $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{SiO}_2@\text{NH}_2$ -Nanopartikel (Abbildung 5.1 a)) in einer konvergenten Synthese von Peptid-Polymer-Konjugaten eingesetzt und mit zwei anderen Systemen verglichen. In einem gemeinsamen Projekt mit Anna Meszynska aus der Arbeitsgruppe von Jean-François Lutz ⁴ in Strasbourg wurde neben den Kern-Schale-Partikeln auch die Einsatzfähigkeit eines in dieser Gruppe entwickelten löslichen polymeren Supports in der Konjugat-Synthese getestet (Abbildung 5.1 b)). Gleichzeitig wurde ein Vergleich der neuen Trägermaterialien zu Standard-Polystyrol-Syntheseharzen aufgezeigt. Teile dieser Arbeit konnten bereits veröffentlicht werden.^[274]

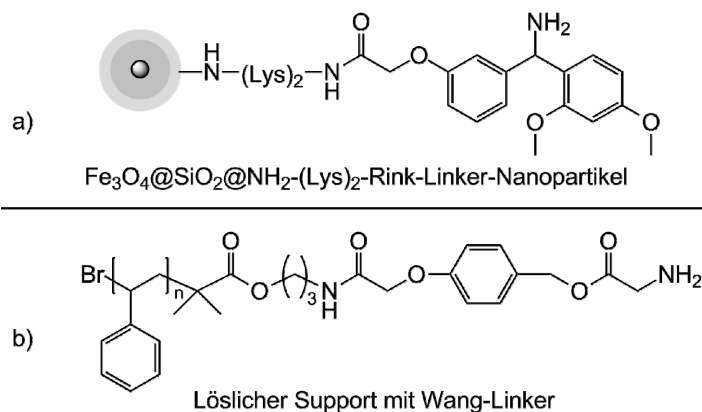


Abbildung 5.1. Supports für die festphasengebundene Synthese von Peptid-Polymer-Konjugaten.

Die kovalente Verknüpfung von Polymer und Peptid sollte über simple Peptidkupplungschemie erfolgen. Die Strategie sah zunächst eine Synthese des Peptidfragments am jeweiligen Trägermaterial vor. Anschließend sollte ein α -Methoxy- ω -carboxy-polyethylenglykol-Molekül (*m*PEG-COOH) an den freien *N*-Terminus des Peptids gekuppelt werden (Abbildung 5.2).

⁴ Institut Charles Sadron, Straßbourg, Frankreich

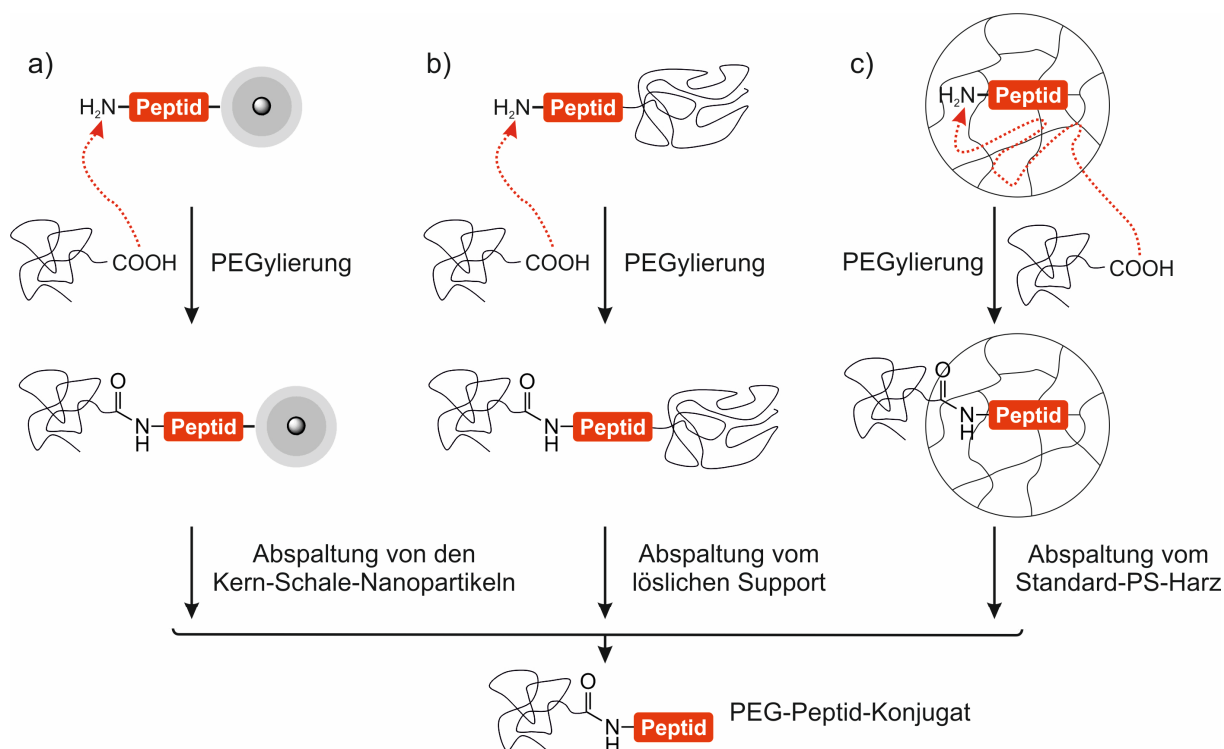


Abbildung 5.2. Synthesestrategien der terminalen PEO-Konjugation an geträgerte Peptide: kolloidale Nanopartikel-Träger (a), lösliche Polystyrol-Träger (b) und Standard PS Mikrogel-Harze (c).^[79]

Bisher wurde diese Synthesestrategie an Mikrogel-Harzen als Trägermaterial durchgeführt, allerdings sinken die Kupplungsraten des Polymerfragments dramatisch bei zunehmender Kettenlänge des PEGs, was mit der erschwerten Diffusion der Moleküle durch die Matrix des Harzes zusammenhängt.^[63, 275-276] Während $m\text{PEG-COOH}$ mit $M_{n,\text{PEG}}=760 \text{ g/mol}$ nahezu quantitativ an ein Peptidfragment gekuppelt werden konnte, fiel die Kupplungsrate bei $M_{n,\text{PEG}}=2000 \text{ g/mol}$ trotz hohem Überschuss der PEGylierungs-Reagenzien auf nur noch 40% ab.^[276] Die $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{SiO}_2@\text{NH}_2$ -Nanopartikel sollten potentiell die Einschränkung der Diffusion von größeren Molekülen (z.B. $m\text{PEG-COOH}$ mit $M_{n,\text{PEG}}>1000 \text{ g/mol}$) in der Matrix minimieren und höhere Umsätze ermöglichen, da die *N*-terminalen Amino-Funktionen des Peptidfragments direkt an der Oberfläche der Partikel präsentiert werden.

5.2 Peptidsynthese

Nach organischer Funktionalisierung der $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{SiO}_2@\text{NH}_2$ -Nanopartikel durch zwei Lysin-Moleküle und den benötigten Rink-Amid-Linker für die finale Abspaltung der Produkte (Abbildung 5.1 a)), wurde folgende Peptidsequenz, abgeleitet aus Muschelkleber-Proteinen,^[271] über SPPS synthetisiert:



Nach abschließender Fmoc-Abspaltung wurde eine Teilprobe des Pentapeptids vor der PEGylierung vom Trägermaterial abgespalten und mittels ESI-MS analysiert (Abbildung 5.3). Das Spektrum bestätigt die erfolgreiche Synthese der Peptidsequenz.

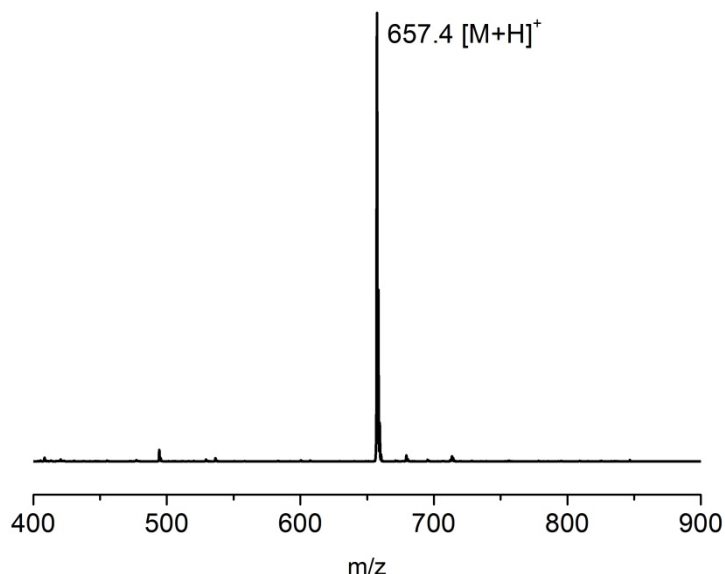


Abbildung 5.3. ESI-MS-Spektrum des an MagSilica@ NH_2 -IPDI-PEI₂₅₀₀₀-Nanopartikeln synthetisierten Peptids $\text{H}_2\text{N-Tyr-Lys-Tyr-Lys-Gly-CONH}_2$. m/z (%): $M_{\text{Th}} = 656.36 \text{ g/mol}$: 657.4 (100) ($[\text{M}+\text{H}]^+$).

5.3 PEGylierung

Das an den Partikeln verbliebende Peptid wurde für eine Kupplung von *m*PEG-COOH an den freien *N*-Terminus verwendet. Um das Potential des Supports zu evaluieren, wurden zwei unterschiedliche PEG-Molmassen gewählt ($M_{\text{n,PEG}}=2000$ und 5000 g/mol) (**15** + **16**). Die Kupplung wurde unter inerter Atmosphäre über fünf Tage mit lediglich zwei Äquivalenten *m*PEG-COOH im Vergleich zu den freien Amino-Funktionen des Peptids durchgeführt. Bekannte PEGylierungs-Strategien nutzen normalerweise einen sehr hohen Überschuss (bspw. 10 Äquivalente), um eine hohe Umsetzung zu erzwingen. Die Aktivierung des *m*PEG-COOH wurde über PyBOP/DIPEA (8/16 Äquivalente) in einer Lösung auf DMF/DCM (9:1) realisiert (Abbildung 5.4).

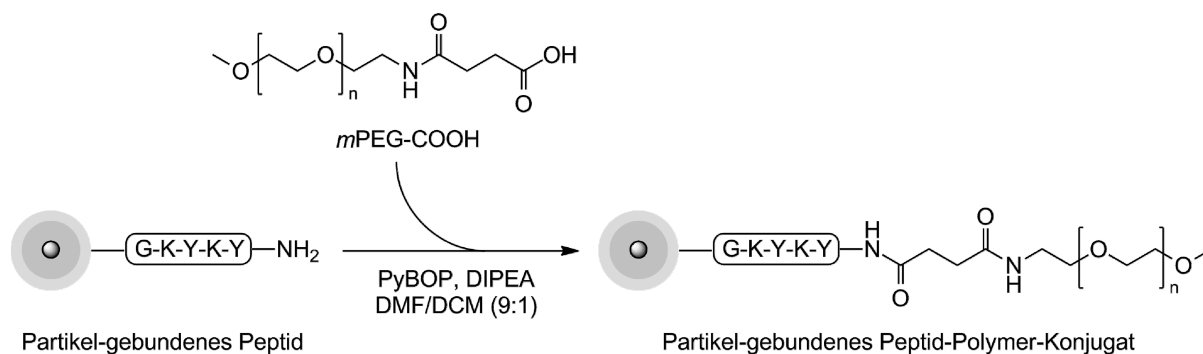


Abbildung 5.4. Verknüpfung von $m\text{PEG-COOH}$ mit Partikel-gebundenem Peptid zum Peptid-Polymer-Konjugat.

Als Vergleichsreaktion wurde die Strategie unter identischen Bedingungen an einem Rink-Amid-Polystyrol-Harz (1% quervernetzt mit 1,4-Divinylbenzol) durchgeführt, welches die gezeigte Peptidsequenz ebenfalls auf dem Trägermaterial präsentiert. Die Abspaltung der Peptid-Polymer-Konjugate erfolgte in einer TFA/DCM-Lösung (1:1) für drei Stunden bei allen Trägermaterialien. Die Produkte wurden nach Abtrennung des jeweiligen Supports in kaltem Ether ausgefällt und isoliert. MALDI-ToF-MS bestätigte die Bildung der Peptid-Polymer-Konjugate mit den jeweiligen PEG-Molmassen ($M_{n,\text{PEG}}=2000$ und 5000 g/mol). Abbildung 5.5 zeigt die Spektren der an den $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{SiO}_2@\text{NH}_2$ -Nanopartikeln synthetisierten Konjugate.

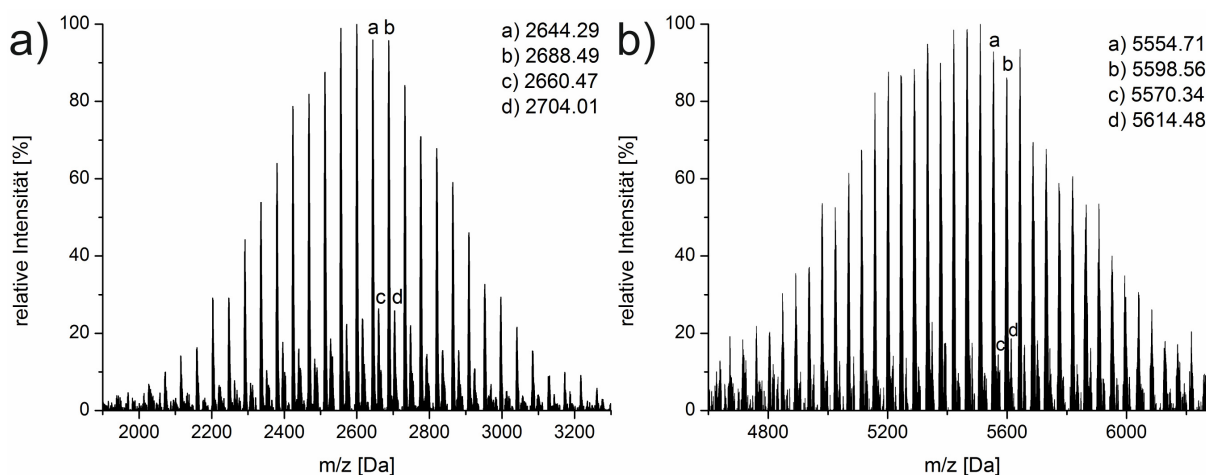


Abbildung 5.5. Maldi-ToF-MS von $\text{MeO-PEG}_{M=2000}\text{-Tyr-Lys-Tyr-Lys-Gly-CONH}_2$ (**22**) (a) und $\text{MeO-PEG}_{M=5000}\text{-Tyr-Lys-Tyr-Lys-Gly-CONH}_2$ (**23**), (b) synthetisiert an superparamagnetischen Kern-Schale-Nanopartikeln.

$^1\text{H-NMR}$ -Analysen der Rohprodukte (siehe Abschnitt 9.12) bestätigen eine quantitative Kupplung bei der PEGylierung mit $M_{n,\text{PEG}}=2000$ g/mol und eine Kupplungsrate von 42% bei der PEGylierung mit $M_{n,\text{PEG}}=5000$ g/mol (Tabelle 5.1).

Tabelle 5.1. Kupplungsraten des *m*PEG-COOH an ein Peptidfragment auf verschiedenen Trägermaterialien.

Trägermaterial	Kupplungsraten	
	$M_{n,\text{PEG}}=2000 \text{ g/mol}$	$M_{n,\text{PEG}}=5000 \text{ g/mol}$
Kern-Schale-Nanopartikel	quantitativ	42%
Löslicher Support	quantitativ	39%
Standard PS-Harz	6%	8%

Die Vergleichsexperimente bestätigen den starken Vorteil der $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{SiO}_2@\text{NH}_2$ -Nanopartikel und des löslichen Supports für die Konjugat-Synthese im Vergleich zur PEGylierung der Peptide am Rink-Amid-Polystyrol-Harz, welche lediglich Kupplungsraten von unter 10% lieferten und damit über 90% des kostenintensiven Peptids verschwendeten (Tabelle 5.1). Im Gegensatz dazu gelang die PEGylierung an den Kern-Schale-Nanopartikeln mit *m*PEG₂₀₀₀ quantitativ und bei *m*PEG₅₀₀₀ mit bemerkenswerten 42% bei gerade mal zwei eingesetzten Äquivalenten während der Reaktion.^[274] Diese hohen Kupplungsraten konnten mit dem löslichen Support ebenfalls erreicht werden. Die Kupplung mit *m*PEG₂₀₀₀ verlief ebenso quantitativ, während bei der PEGylierung mit *m*PEG₅₀₀₀ starke 39% gekuppelt wurden. Die hohen Kupplungsraten bestätigen die gute Zugänglichkeit der funktionellen Gruppen an der Oberfläche der $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{SiO}_2@\text{NH}_2$ -Nanopartikel bzw. am löslichen Support (Abbildung 5.2). Im Vergleich zum Rink-Amid-Polystyrol-Harz wird somit eine effizientere und kostengünstigere Synthese von Peptid-Polymerkonjugaten ermöglicht, die sogar die Kupplung von *m*PEGs mit höheren Molekulargewichten erlaubt.

Es konnte gezeigt werden, dass $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{SiO}_2@\text{NH}_2$ -Nanopartikel auch in der Peptid-Polymer-Konjugat-Synthese erfolgreich eingesetzt werden können und es sogar große Vorteile gegenüber den etablierten Synthesen an Mikrogel-Harzen gibt. In den folgenden Kapiteln wird der Einsatz von MagSilica@NH₂-Partikeln in festphasengebundenen Synthesen gezeigt und diskutiert.

6. Festphasenpeptidsynthese an MagSilica@NH₂-Nanopartikeln

Die beschriebenen MagSilica@NH₂-Partikel stellen eine gute Möglichkeit dar, funktionalisierte Kern-Schale-Partikel in großer Menge zu produzieren und anschließend als Trägermaterial in festphasengebundenen Peptidsynthesen einzusetzen. Nach den bereits gezeigten Stabilitätstests wurden zum einen MagSilica@NH₂-Partikel und zum anderen MagSilica@NH-IPDI-PEI₂₅₀₀₀-Partikel in Peptidsynthesen eingesetzt.

6.1 Peptidsynthese an MagSilica@NH₂-Nanopartikeln

Die über eine mikrowellenunterstützte Synthese funktionalisierten MagSilica@NH₂-Partikel wurden in Zusammenarbeit mit Felix Gandor ebenfalls in einer Peptidsynthese eingesetzt.^[264] Als Zielprodukt wurde für Vergleichsmöglichkeiten das gleiche Tetrapeptid gewählt, welches bereits an den Fe₃O₄@SiO₂@NH₂-Nanopartikeln synthetisiert wurde:



Die Synthese erfolgte unter den bereits beschriebenen Bedingungen nach der Fmoc-Strategie. Nach Isolierung und Reinigung des Produkts wurde der erhaltene Feststoff analysiert.

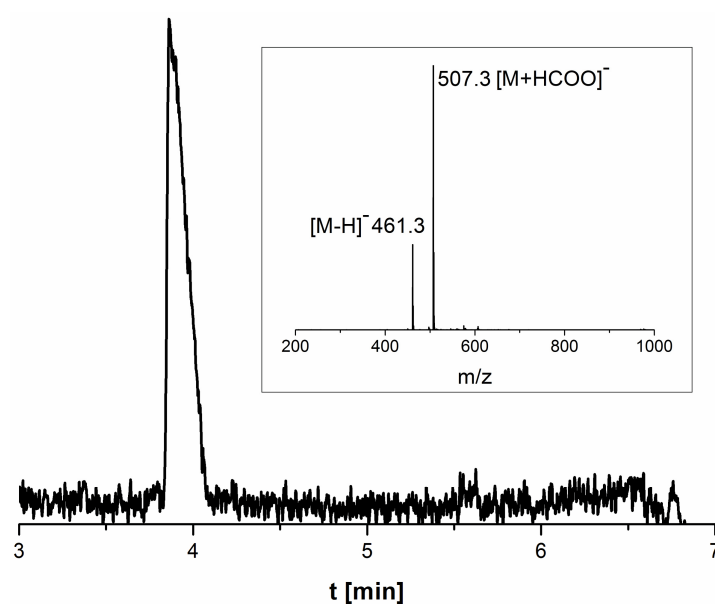


Abbildung 6.1. UPLC-Spur des über mikrowellenunterstützter Synthese hergestellten MagSilica@NH₂-Nanopartikeln synthetisierten Peptids *H*₂N-Phe-Lys-Leu-Gly-CONH₂ (M = 462.30 g/mol) mit eingefügtem ESI-MS-Spektrum des Hauptprodukt-Peaks (Gradient: 0-20 % Acetonitril, RP-C18-Säule, λ=220 nm). Zielpolypeptid mit 95 % Reinheit.

Es wurden 8 µmol des Peptids erhalten, was einer Ausbeute von 82% entspricht. Neben dem Hauptprodukt konnte nur eine geringe Konzentration der ersten Abbruchsequenz H₂N-Lys-Leu-Gly-CONH₂ detektiert werden. Die Reinheit des Peptids liegt mit 95% nach UPLC-ESI-MS-Messungen ebenfalls in einem bemerkenswerten Bereich. ESI-MS- und MALDI-ToF-MS-Messungen bestätigten ebenfalls die erfolgreiche Synthese der Zielsequenz, sowie die der ersten Abbruchsequenz. ¹H-NMR-Analyse zeigte die erwarteten Signale des synthetisierten Peptids.

Die Ergebnisse bestätigen, dass MagSilica@NH₂-Partikel ebenfalls als Trägermaterial für eine festphasengebundene Synthese von Peptidsequenzen eingesetzt werden können. Bemerkenswert ist eine ebenfalls sehr hohe Reinheit des Produkts, vergleichbar mit den Werten für Fe₃O₄@SiO₂@NH₂-Nanopartikel. Die Ausbeute des Zielprodukts mit 82% liegt bei einer Anzahl von vier Aminosäuren in der Sequenz in einem guten Bereich. Allerdings wird auch hier ein Verlust von Trägermaterial während der Synthese bei den Sedimentationsschritten vermutet, der durch Optimierung des magnetischen Systems verhindert werden könnte. Im Vergleich zu Fe₃O₄@SiO₂@NH₂-Nanopartikeln stellen die MagSilica@NH₂-Partikel eine preiswerte Alternative vor allem für größere Ansätze dar, da MagSilica-Partikel als Industrieprodukt in großen Mengen verfügbar ist und lediglich eine Funktionalisierung erfolgt.

6.2 Peptidsynthese an MagSilica@NH-IPDI-PEI₂₅₀₀₀-Nanopartikeln

Die in Abschnitt 3.6.2 beschriebenen, hoch funktionalisierten MagSilica@NH-IPDI-PEI₂₅₀₀₀-Nanopartikel wurden ebenfalls in einer Peptidsynthese eingesetzt, nachdem der für eine Fmoc-Synthesestrategie benötigte Rink-Amid-Linker über das bereits beschriebene Protokoll an die freien Amino-Funktionen gekuppelt wurde. Anschließend erfolgte die Synthese des Peptids. Für Vergleichsmöglichkeiten wurde das bekannte Tetrapeptid als Zielsequenz gewählt:



Das Produkt wurde nach der Synthese isoliert und gereinigt. Es wurden 28 mg Feststoff erhalten und analysiert. Das Peptid konnte mit einer Ausbeute von 82% synthetisiert werden, wobei die Reinheit nach HPLC-ESI-MS-Messung herausragende 97.7% betrug (Abbildung 6.2).

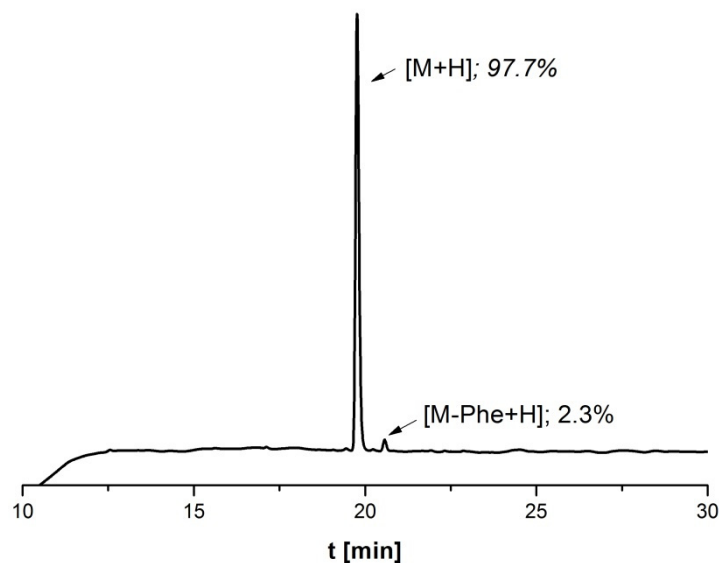


Abbildung 6.2. HPLC-Spur des an MagSilica@NH-IPDI-PEI₂₅₀₀₀-Nanopartikeln synthetisierten Peptids H_2N -Phe-Lys-Leu-Gly-CONH₂ ($M = 462.30 \text{ g/mol}$). (Gradient: 3-60 % Acetonitril, RP-C18 - Säule, $\lambda = 220 \text{ nm}$). Zielpeptid mit 97.7 % Reinheit.

Neben dem Hauptprodukt konnte nur eine geringe Konzentration der unvollständigen Sequenz H_2N -Lys-Leu-Gly-CONH₂ detektiert werden (2.3%). Ein ESI-MS-Spektrum des gesamten Produkts bestätigte ebenfalls die erfolgreiche Synthese der Zielsequenz (Abbildung 5.3).

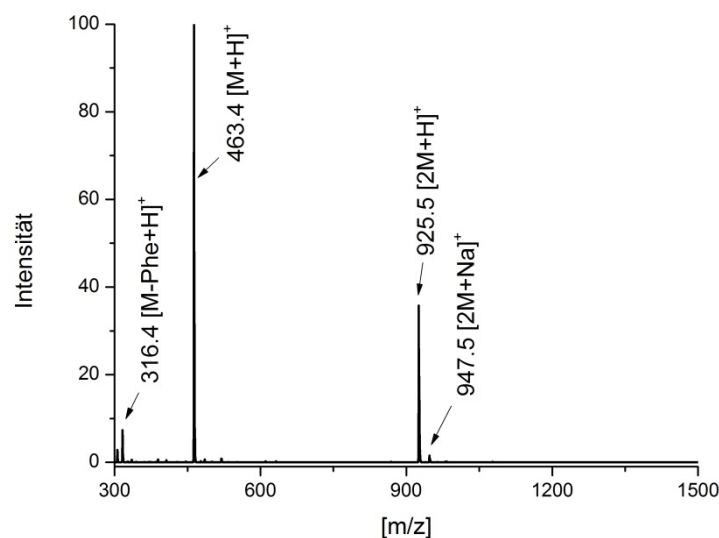


Abbildung 6.3. ESI-MS-Spektrum des an MagSilica@NH₂-IPDI-PEI₂₅₀₀₀-Nanopartikeln synthetisierten Peptids H_2N -Phe-Lys-Leu-Gly-CONH₂. m/z (%): $M_{Th} = 462.29 \text{ g/mol}$: 316.4 (7) ($[M-Phe+H]^+$); 463.4 (100) ($[M+H]^+$); 925.5 (36) ($[2M+H]^+$); 947.5 (2) ($[2M+Na]^+$).

Eine ¹H-NMR-Analyse zeigte die erwarteten Signale und bestätigt gleichzeitig die hohe Reinheit des synthetisierten Peptids. Die Synthese zeigt, dass sich hoch funktionalisierte MagSilica@NH-IPDI-PEI₂₅₀₀₀-Nanopartikel ebenfalls hervorragend für die Synthese von Peptidsequenzen eignen. Ausbeute und Reinheit des Produkts erreichen hohe Werte, die in

vergleichbaren Bereichen zu Fe₃O₄@SiO₂@NH₂- und MagSilica@NH₂-Nanopartikeln liegen. Durch das Upscaling der Funktionalisierung stellen MagSilica@NH-IPDI-PEI₂₅₀₀₀-Nanopartikel eine sehr gute Option als Trägermaterial dar. Allerdings sind weitere Optimierungen und Analysen erforderlich, um den Aufbau der organischen Oberflächenfunktionalisierung besser nachvollziehen zu können.

7. Synthese eines Oligonucleotids an MagSilica@NH₂-Nanopartikeln

7.1 Synthesestrategie

Oligonucleotide werden heutzutage häufig über die sogenannte β -Cyanoethylphosphoramidit-Variante des Phosphittriesterverfahrens hergestellt (siehe Abschnitt 2.3.5). Die Synthese erfolgt dabei an einem festen Trägermaterial, welches Reinigung und Aufarbeitung erheblich erleichtert. Ziel dieses Teilprojekts war eine Evaluierung der Anwendbarkeit superparamagnetischer Nanopartikel als feste Phase bei dieser Variante der Oligonucleotidsynthese. Dafür wurden die in Abschnitt X vorgestellten MagSilica@NH₂-Nanopartikel verwendet. Als Synthesebaustein stand DMT-*d*-Adenosin(bz)- β -Cyanoethylphosphoramidit-Adenosin (*dA*^{BZ}) zur Verfügung. Um die Beladung der Partikel mit diesem Molekül zu ermöglichen, mussten an der Oberfläche derselben Hydroxy-Gruppen eingeführt werden. Zunächst wurden die Amino-Gruppen unter Ausbildung einer Amid-Bindung mit Bernsteinsäureanhydrid in freie Carboxyl-Funktionen konvertiert (Abbildung 7.1 A). Anschließend erfolgte nach deren Aktivierung mit PyBOP und DIPEA die Verknüpfung mit Diethylenglykol unter Ausbildung einer Ester-Bindung zur Einführung von freien Hydroxy-Funktionen (Abbildung 7.1 B). Diese Ester-Bindung sollte zur finalen Abspaltung des Zielprodukts unter basischen Bedingungen dienen.

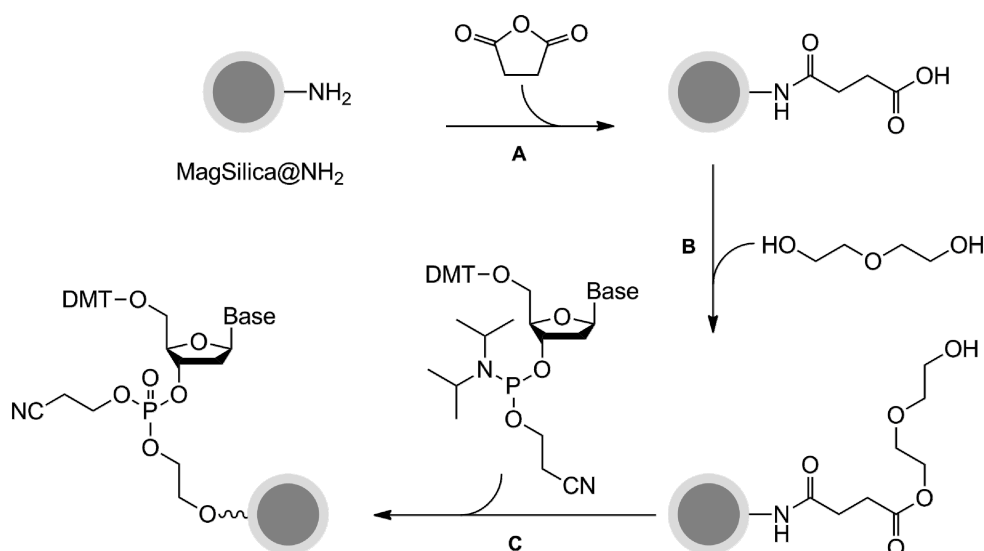


Abbildung 7.1. Konvertierung freier Amino-Funktionalitäten von MagSilica@NH₂-Nanopartikel in freie Hydroxy-Gruppen und anschließender Beladung. Kupplung von Bernsteinsäureanhydrid (A), gefolgt von einer Ester-Bildung mit Diethylenglykol (B) und finaler Kupplung von DMT-*d*-Adenosin(bz)- β -Cyanoethylphosphoramidit-Adenosin mit folgender Oxidation (C).

Die Einführung des ersten Nucleotids erfolgte über das 3'-Ende des dA^{BZ} -Moleküls nach Aktivierung mit 5-Benzylmercapto-1H-tetrazol (BMT) in Acetonitril an die freien Hydroxy-Funktionen. Anschließend wurde der Phosphittriesther mit einem Gemisch aus I₂ und Pyridin in THF/H₂O zum Phosphotriester oxidiert (Abbildung 6.1 C). In einem sich wiederholenden Zyklus erfolgte nun der Aufbau des Oligonucleotids (siehe Abbildung 7.2).

7.2 Oligonucleotidsynthese

Die über einen Linker bereits mit einem Nucleotid beladenen Partikel wurden in einer Oligonucleotidsynthese eingesetzt. Dabei wurden in einem wiederholten Synthese-Zyklus zwei weitere dA^{BZ} -Moleküle an die Partikel gekuppelt.

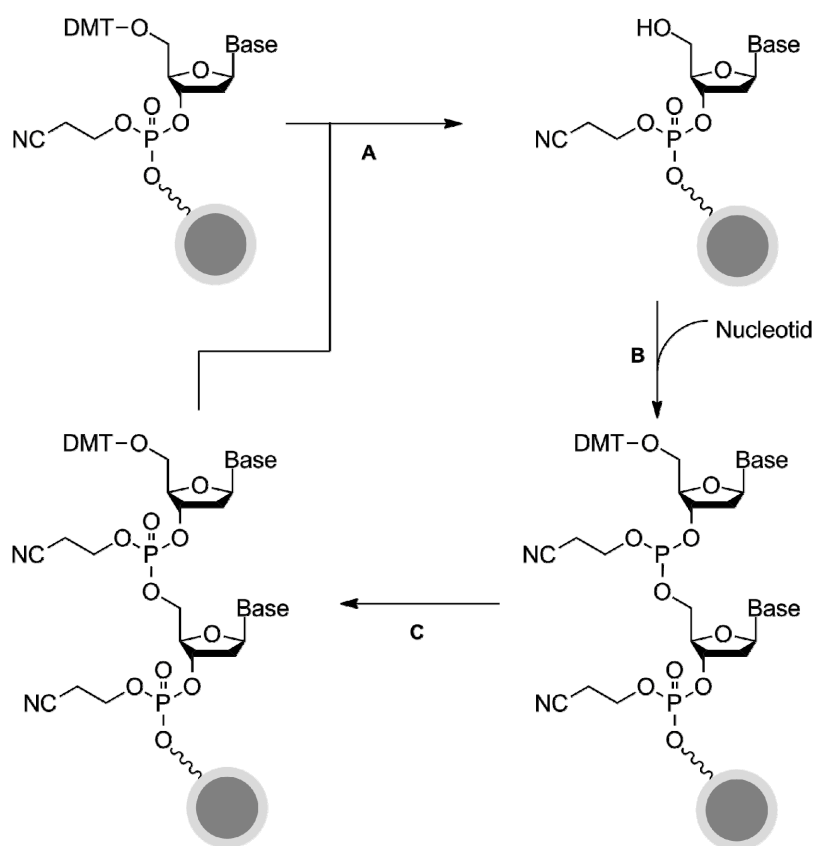


Abbildung 7.2. Kupplungszyklus von Nucleotiden an superparamagnetischen Kern-Schale-Nanopartikeln (Entschützung (A), Kupplung (B), Oxidation (C)).

Im ersten Schritt wurde die Dimethoxytrityl-Schutzgruppe am 5'Ende mit einer Lösung aus 3%iger Trichloressigsäure in DCM abgespalten (Abbildung 7.2 A). Anschließend erfolgte die Kupplung des nächsten dA^{BZ} -Moleküls mit BMT in Acetonitril (B). Eine folgende Oxidation mit einem Gemisch aus I₂ und Pyridin in THF/H₂O lieferte den Phosphotriester (C). Die Abspaltung des Produkts vom Trägermaterial nach mehreren Zyklusdurchläufen erfolgte in

einer Ammoniak-Lösung (25%) bei 55°C über 3 Stunden. Nach magnetischer Abtrennung der Partikel wurde der Ammoniak unter vermindertem Druck entfernt und das Rohprodukt lyophilisiert. Es wurden 14 mg Feststoff erhalten und analysiert. Das Nucleotid konnte mit einer Ausbeute von 56% synthetisiert werden. Abbildung 7.3 zeigt das synthetisierte Oligonucleotid.

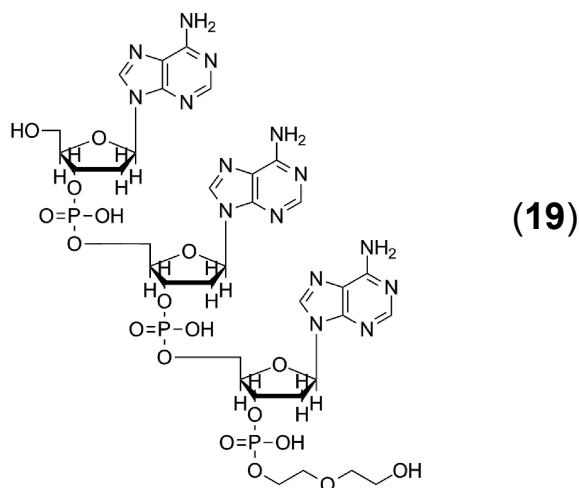


Abbildung 7.3. Struktur des an MagSilica@NH₂-Nanopartikeln synthetisierten Trinucleotids A-A-A-O-(CH₂)₂-O-(CH₂)₂-OH (**24**) (M_{Th}=1045.24 g/mol).

Das Produkt wurde mittels ESI-MS analysiert, welches die erfolgreiche Synthese des Trinucleotids bestätigt (Abbildung 7.4). Das Spektrum zeigt bei m/z 1048 die höchste Intensität. Dieses Signal konnte dem Zielprodukt zugeordnet werden.

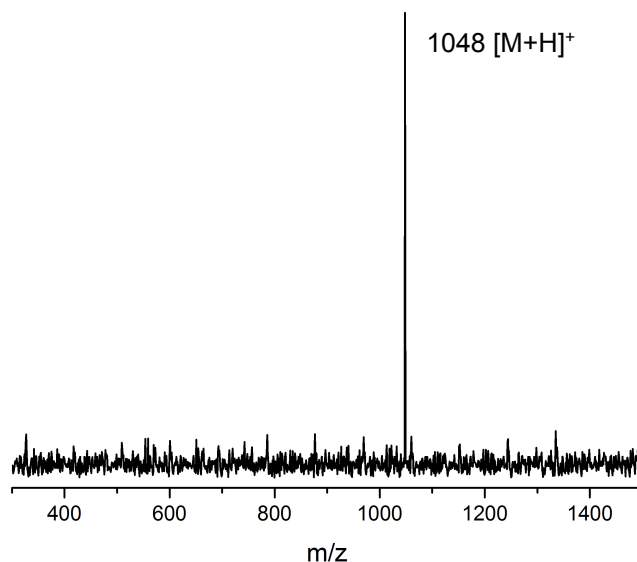


Abbildung 7.4. ESI-MS-Spektrum des an MagSilica@NH₂-Nanopartikeln synthetisierten Trinucleotids A-A-A-O-(CH₂)₂-O-(CH₂)₂-OH (**24**) (M_{Th}=1045.24 g/mol).

Eine ebenfalls durchgeführte MALDI-ToF-MS-Messung weist das Produkt, wie auch die erste Abbruchsequenz nach. In dem entsprechenden Spektrum entspricht das Signal bei m/z 1047

dem des Hauptprodukts und bei m/z 734 dem der unvollständigen Sequenz A-A-O-(CH₂)₂-O-(CH₂)₂-OH (Abbildung 7.5).

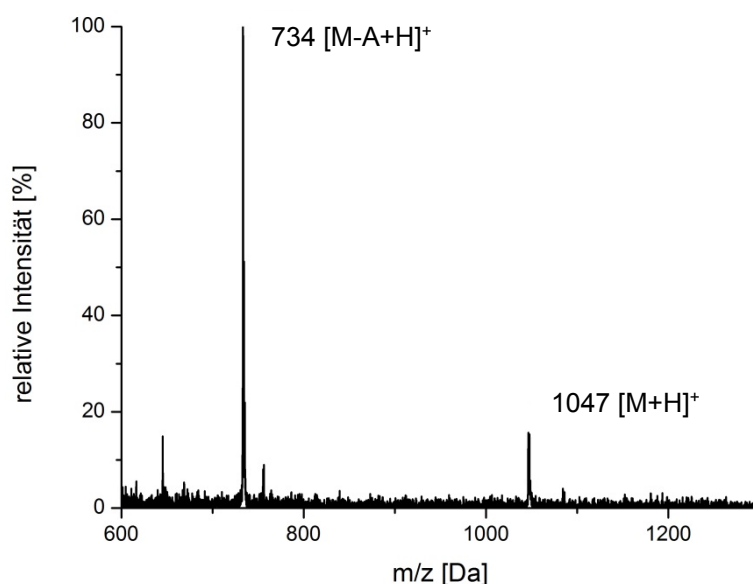


Abbildung 7.5. Maldi-TOF-MS des an MagSilica@NH₂-Nanopartikeln synthetisierten Trinucleotids A-A-O-(CH₂)₂-O-(CH₂)₂-OH ($M_{Th}=1045.24$ g/mol)..

Die Analysen bestätigen die erfolgreiche Synthese eines Trinucleotids an entsprechend modifizierten MagSilica@NH₂-Nanopartikeln. Eine Anwendung von magnetischen Kern-Schale-Partikeln als feste Phase ist somit auch in der Oligonucleotidsynthese möglich. Allerdings liegt die Ausbeute von 56% weit unter den mit etablierten Trägermaterialien möglichen Werten von über 90%.^[19] Da lediglich ein Trinucleotid synthetisiert wurde, scheint das System für die Herstellung längererkettiger Nucleotidsequenzen nicht optimal zu sein. Die Einführung eines besser geeigneten Linkers ist anzuraten, um die oben gezeigten Reaktionsschritte bei der Konvertierung in freie Hydroxy-Funktionen zu eliminieren. Eine weitere Möglichkeit wäre ein anderes Silan als Ersatz für APTMS bei der Funktionalisierung der MagSilica-Nanopartikel, um so eine andere funktionelle Gruppen einzuführen.

8. Zusammenfassung und Ausblick

In festphasengebundenen Synthesen spielen Trägermaterialien eine entscheidende Rolle für den Syntheserfolg. Sie ermöglichen den Zugang zu vielen komplexen Verbindungen, u.a. zu Peptiden, multifunktionalen Materialien, Polymer-Peptid-Konjugaten, Oligonucleotiden oder monodispersen Polyamiden. Trotz zahlreicher neuer Entwicklungen hat sich in der festphasengebundenen Peptidsynthese das Prinzip der Trägermaterialien nicht grundlegend geändert. Geringfügig quervernetzte Polystyrol-Harze sind immer noch die meist verwendeten Trägermaterialien in der standardisierten Peptidsynthese. In dieser Arbeit wurden superparamagnetische Kern-Schale-Nanopartikel entwickelt und erstmals deren Einsatz als neues Trägermaterial für die Synthese von Peptiden, Peptid-Polymer-Konjugaten und Oligonucleotiden demonstriert.

Erste Studien zur Entwicklung der Kern-Schale-Nanopartikel erfolgten über einen klassischen Stöber-Prozess. Zwar konnten Magnetit-Nanopartikel (Fe_3O_4) von einer Silica-Schale umschlossen werden, allerdings bestand ein großer Optimierungsbedarf aufgrund starker Agglomeration und Aggregation während der Synthese. Sowohl die Herstellung der Magnetit-Partikel als auch der klassische Stöber-Prozess verliefen sehr zeitintensiv, sodass eine gewünschte Monodispersität und eine einheitliche Partikelgröße des Produkts auf diesem Weg nicht realisierbar schienen. Aufgrund dieser Erfahrungen wurde die Entwicklung einer mikrowellenunterstützten Synthese verfolgt, um diese Probleme zu lösen.

Durch die Verwendung einer Benzylalkohol-Syntheseroute in einem Mikrowellenreaktor gelang es aus Eisen(III)-acetylacetonat mit guter Kontrolle und einer sehr kurzen Reaktionszeit von 12 Minuten superparamagnetische Kernpartikel aus Magnetit mit einem Durchmesser von 6 ± 1 nm darzustellen. Zum Aufbau der Silica-Schale zeigte sich ein neu entwickelter mikrowellenunterstützter Stöber-Prozess als zielführend, welcher hier erstmals auf die Herstellung von Magnetit-Silica-Kern-Schale-Nanopartikeln angewendet wurde. Die neu etablierte Syntheseroute erlaubte die hervorragende und reproduzierbare Darstellung von Kern-Schale-Nanopartikeln mit sehr guter Kontrolle in einer kurzen Zeit. Im dritten Schritt wurden die Kern-Schale-Partikel mit Aminopropyltrimethoxysilan funktionalisiert, wofür wiederum die mikrowellenunterstützte Synthese eingesetzt wurde. So wurden hochpräzise, monodisperse $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{SiO}_2@\text{NH}_2$ -Nanopartikel mit einem Durchmesser von 69 ± 8 nm und einem Beladungswert von 0.11 mmol/g erhalten. Die entwickelte Funktionalisierungsreaktion konnte zusätzlich auf das Industrieprodukt MagSilica® (magnetisch steuerbare Maghemit-Kristalle, eingeschlossen in einer Silica-Matrix) übertragen werden. Die erhaltenen MagSilica@ NH_2 -Partikel bieten eine kostengünstige Alternative mit einer vergleichbaren Beladung (0.10 mmol/g). Weitere Verbesserungen des Funktionalitätsgrades auf bis zu 0.35

mmol/g konnten bei beiden Trägersystemen durch die Verwendung von Funktionalitäts-Multiplikatoren (u.a. Polyethylenimin) erzielt werden.

Die erhaltenen MagSilica@NH₂-Partikel sowie die Fe₃O₄@SiO₂@NH₂-Nanopartikel zeigten in durchgeführten Stabilitätstest hervorragende Ergebnisse und wurden als neue Trägermaterialien für festphasengebundenen Synthesen getestet. Die erforderliche Produktaufreinigung erfolgte durch ein externes Magnetfeld, durch welches die Partikel reversibel sedimentierbar sind. Für erste Studien zur Synthese von Peptiden wurde eine 4-mer-Peptidsequenz FKLG ausgewählt, welche von beiden Trägersystemen mit Ausbeuten von über 70% und mit herausragender Reinheit von jeweils über 95% synthetisiert werden konnte. Auch das biologisch relevante Undekapeptid QTTTWQDPRKG wurde trotz des schwierigen QDPR-Segments mit sehr guter Ausbeute und hoher Reinheit synthetisiert.

Besonders eindrucksvolle Ergebnisse erzielten die Fe₃O₄@SiO₂@NH₂-Nanopartikel bei der Synthese von Peptid-Polymer-Konjugaten. In einer Modellreaktion, bei der Konjugation von ω-Carboxyl-Polyethylenglykol mit Molekulargewichten von 2000 und 5000 g/mol an N-terminale Aminofunktionalitäten geträgerter Peptide, konnte gezeigt werden, dass die Ligrationsreaktion mit PEG₂₀₀₀ quantitativ und mit PEG₅₀₀₀ noch mit über 40% Umsatz verlief.

In weiteren Experimenten konnte außerdem die Anwendbarkeit der superparamagnetischen Kern-Schale-Nanopartikel als Trägermaterial bei der Synthese eines Trinucleotids nachgewiesen werden. Eine Anwendung von magnetischen Kern-Schale-Nanopartikeln als Festphase erscheint somit auch für die Oligonucleotidsynthese möglich, wobei die Herstellung langkettiger Nucleotidsequenzen noch aussteht.

In Folgestudien könnten die superparamagnetischen Kern-Schale-Nanopartikel in weiteren festphasengebundenen Synthesen auf Anwendbarkeit geprüft werden. Desweiteren erscheint eine genaue Charakterisierung der PEI-funktionalisierten Partikel sinnvoll, da bislang nur wenig über die Struktur der Bindung bekannt ist. Eine weitere Herausforderung liegt in der Etablierung eines automatisierten Systems der festphasengebundenen Synthese mit magnetischem Trägermaterial. Ebenso wurde eine Kooperation mit Wheeler Microfluidics Lab (University of Toronto) initialisiert. Die dort etablierte Technik der „Digital Microfluidics“ erlaubt die gezielte Bewegung und Manipulation von definierten Mikrolitertröpfchen. Die kolloidalen Träger sollen in diesen Systemen zur Peptidsynthese eingesetzt werden.

Desweiteren bieten die magnetischen Träger aufgrund der hervorragenden Absorptionsfähigkeit für Mikrowellen die Möglichkeit für lokales Heizen der Träger und damit der Beschleunigung oberflächengebundener Kupplungsreaktionen ohne die gesamte Lösung erwärmen zu müssen. Daraus sollte sich die Möglichkeit ergeben, die Kupplungsreaktion lokal zu beschleunigen ohne alle Reaktanden, wie z.B. empfindliche Reaktivester, in der Kupplungslösung einer Temperaturerhöhung aussetzen zu müssen.

9. Experimenteller Teil

9.1 Materialien

9.1.1 Geräte

a) *Mikrowellenunterstützte Synthesen*

Die Synthese der Magnetitnanopartikel, die Silica-Beschichtung und die Amino-Funktionalisierung wurden mit einer Discover SP Monomode-Mikrowelle (CEM GmbH, Kamp-Linfort, Deutschland) mit einer Arbeitsfrequenz von 2.45 GHz durchgeführt. Die maximale Ausgangsleistung liegt bei 300 W. Es wurden spezielle Mikrowellenreaktoren aus Pyrex®-Glas mit einem bis zu 21 bar druckbeständigem Septum verwendet (10 und 30 mL). Die Temperatur- und Druckmessungen erfolgten durch Infrarot-Messung am Gefäßboden bzw. mit einem Piezo-Drucksensor am Septum. Diese sind in einem Temperaturbereich von 25-250°C und bis zu einem Druck von maximal 20 bar regulierbar. Es wurde bei allen Synthesen der Dynamic Mode der Mikrowelle genutzt. Dieser ermöglicht eine konstante Temperatur durch Einstellen einer maximalen Leistung und eines maximalen Druckes. Die synthesespezifischen Parameter wie Leistung, Druck, Temperatur und Reaktionszeit werden in den jeweiligen Synthesebeschreibungen aufgezeigt.

b) *Automatisierte Festphasenpeptidsynthese*

Die Peptidsynthesen wurden vollautomatisch an einem ABI 433A Peptid Synthesizer der Firma Applied Biosystems (Life Technologies Corporation, Darmstadt, Deutschland) gemäß der Standard-Syntheseprotokolle (*Fastmoc* ABI) durchgeführt. Es wurden Ansätze im 0.1 mmol-Maßstab für 8-mL-Reaktoren gewählt. Die Abspaltung der Fmoc-Schutzgruppe wurde mit einem UV-vis-Detektor der Firma PerkinElmer, Inc. (Massachusetts, USA) bei 301 nm quantitativ verfolgt.

9.1.2 Untersuchungsmethoden

a) *TEM*

Die transmissionsmikroskopischen Aufnahmen wurden zum einen mit einem TEM/STEM JEOL JEM2200FS (JEOL GmbH Echting b. München, Deutschland) mit einer 200 kV Feldemissionsquelle am Institut für Physik der Humboldt-Universität zu Berlin aufgenommen

und zum anderen mit einem Philips Tecnai F30 Mikroskop bei 300 kV an der ETH Zürich aufgenommen. Die gemessenen Daten wurden mit der freien Software ImageJ ausgewertet. Die Proben wurden durch Auftragen von 5 μL der zu untersuchenden Nanopartikellösung auf ein mit Kohlelochfilm bedampftes Kupfer-TEM-Netz und anschließendem Trocknen an der Atmosphäre hergestellt.

Die Auswertung erfolgte durch die automatische Auswertungssoftware ImageJ.^[251] Dabei wird angenommen, dass es sich ab einem bestimmten Grauschwellenwert um einen Partikel handelt. Wird hingegen der Grenzwert nicht erreicht, wird der Punkt zum Hintergrund gezählt. Anschließend wird bei bekannter Pixelgröße die Fläche der Nanopartikel berechnet und in den Durchmesser umgerechnet. Nach Mittelung über 50 Nanopartikel ergab sich eine Vorstellung über die Größe der Nanopartikel und dessen Verteilung.

b) SEM

Sekundärelektronenmikroskopie (Scanning electron microscopy, SEM) wurde an einem LEO 1530 Gemini bei 5 kV durchgeführt. Die Partikel wurden in Ethanol dispergiert und ein Tropfen anschließend auf einem Aluminium-Träger an der Luft getrocknet. Die Auswertung erfolgte durch die automatische Auswertungssoftware ImageJ.^[251] Nach Mittelung über 50 Nanopartikel ergab sich eine Vorstellung über die Größe der Nanopartikel und dessen Verteilung.

c) AFM

Die Größe und Größenverteilung der Magnetit-Nanopartikel wurden u.a. mittels Rasterkraftmikroskopie bestimmt. Für die AFM-Untersuchungen wurden etwa 20 μL der entsprechenden Probe auf ein frisch abgezogenes Mica-Substrat (V1 Quality, 0,16 mm Dicke) getropft, welches sich über einem Permanentmagnet befand und gleichzeitig bei 1000 rpm auf einem Spin-Coater rotierte. Dies ermöglicht eine gleichmäßige Verteilung. Zudem wird eine Anhäufung von Agglomeraten durch die verdampfende Lösungsmittelfront aufgrund der magnetischen Fixierung der Nanoteilchen vermieden. Nach dem vollständigen Verdunsten des Lösungsmittels wurden die Proben mit einem Multimode 8 Rasterkraftmikroskop (Bruker, Santa Barbara, USA) untersucht. Es wurde ausschließlich im Tapping Modus gemessen. Dabei wurden folgende Cantilever verwendet: POINTPROBE-PLUS silicon-SPM-sensors (Nanosensors, Schweiz). Die Messungen wurden bei Raumtemperatur und unter Normaldruck durchgeführt. Die Auswertung der Rohdaten erfolgte mit der Software Gwyddion 2.19. Die Bestimmung der Partikelgrößenverteilung erfolgte mit OriginLab 8.5G.

d) UV-Vis

UV-Absorptionsmessungen wurden an einem Shimadzu UV-Vis recording Spektrometer UV-2501PC durchgeführt unter der Verwendung von Quartz.Küvetten ($V=1\text{ mL}$, $d=1\text{ cm}$).

Die Messung von Absorptionsspektren zur Bestimmung der Sedimentationsgeschwindigkeit wurde mit dem Spektrometer HR2000 (Ocean Optics; Sony ILX511 CCD-Detektor, Auflösung (FWHM): 0.065 nm ; asymmetrisch gekreuzte Czerny-Turner-Konfiguration)(Ocean Optics Inc., USA) bei Raumtemperatur und an Luft durchgeführt. Eine Deuterium-Wolfram-Lampe (Stellar Net Inc. USA) wurde als Lichtquelle verwendet. Das eingestrahlte Licht wurde mittels einer $400\text{ }\mu\text{m}$ Glasfaser P400-2-SR (Ocean Optics) von der Lichtquelle zum Probenhalter geleitet und mit der Linse 74-UV-HT (Ocean Optics) auf die Probe fokussiert. Das transmittierte Licht wurde mit einer baugleichen Linse gesammelt und über die $600\text{ }\mu\text{m}$ Glasfaser QP600-025-SR zum Spektrometer geleitet. Die Spektren wurden in einem Intervall von 3 ms aufgenommen, wobei anschließend mindestens zehn Spektren gemittelt wurden. Die Datenverarbeitung der Extinktionsspektren erfolgte mit den Programmen SpectraSuite (Ocean Optics) und OOIBase32 (Ocean Optics), die grafische Auswertung mit OriginPro 8.5G.

e) SAXS

Small-Angle X-ray Scattering (SAXS) Messungen einer Dispersion von $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{SiO}_2@\text{NH}(\beta\text{Ala})_2@\text{Rink-Linker-Partikel}$ wurden an der BAMline am Synchrotron BESSY II (Berlin, Deutschland) mit einem Kratky-type instrument (SAXSess von Anton Paar, Austria) bei $25 \pm 1^\circ\text{ C}$ durchgeführt. Das System ist mit einer konventionellen Röntgenquelle (PANalytical, Kassel, Deutschland) verbunden, die mit einer geschlossenen Röntgenröhre (Kupferanode als Target, Cu-K_α-Röntgenstrahlen mit einer Wellenlänge von 0.124 nm) ausgestattet und bei 40 kV und 50 mA arbeitet. Die gestreute Röntgenintensität wurde mit einem CCD-Detektionssystem (Roper Scientific, Ottobrunn, Deutschland) gemessen und mit der SAXSQuant-Software (Version 2.0) verarbeitet.

f) MALDI-TOF-MS

Matrix-assisted laser desorption ionization time of flight Massenspektroskopie (MALDI-TOF-MS) wurde an einer Bruker Reflex III Workstation durchgeführt. Die Peptide, Peptid-Polymer-Konjugate und das Oligonucleotid wurden in Wasser gelöst (Konzentration: 0.1 mg/mL). $1\text{ }\mu\text{L}$ der jeweiligen Lösung wurde mit $1\text{ }\mu\text{L}$ einer Matrix-Lösung gemischt. Die Matrix-Lösung für Peptide und Peptid-Polymer-Konjugate bestand aus $10\text{ mg }\alpha\text{-Cyano-4-hydroxysäure}$ in

einem 1 mL Acetonitril-Wasser-Gemisch (1:1) mit 0.1% TFA. Die Matrix-Lösung für das Oligonucleotid bestand aus 10 mg 2,5-Dihydroxybenzoesäure in 1 mL Wasser. Die vermischten Proben- und Matrixlösungen wurden auf den Probenhalter getropft und an der Luft getrocknet. Die Messungen der Peptide und Peptid-Polymer-Konjugate wurden im linearen positiven Modus, das Oligonucleotid im linearen negativen Modus gemessen, jeweils bei einer Beschleunigungsspannung von 20 kV mit 30 shots pro Messung.

g) *HPLC-ESI-MS*

Hochleistungsflüssigkeitschromatographie Elektrospray-Ionisation-Massenspektrometrie (HPLC-ESI-MS) wurde an einem Agilent 1100 HPLC-System mit UV/Vis-Detektor und VL-Quadrupol-Massenspektrometer (Agilent Technologies Deutschland GmbH) durchgeführt. Eine temperaturkontrollierte Säule (55°C, RP-C18, Polaris Deutschland) wurde verwendet mit einer Flussrate von 0.3 mL/min. Die Detektion erfolgt bei einer Wellenlänge von $\lambda=210$ nm. Gradienten und Laufmittel wurden unter den jeweiligen Chromatogrammen angegeben.

h) *¹H-NMR*

¹H Nuclear Magnetic Resonance (¹H-NMR) Spektren wurden an einem Bruker AV 500 Spektrometer bei 500 MHz bei Raumtemperatur gemessen. Die verwendeten deuterierten Lösungsmittel wurden bei der detaillierten Auswertung der Signale angegeben.

i) *AFT-FT-IR*

Fourier Transform Infrarot Spektroskopie (ATR-FT-IR) wurde an einem JASCO FT/IR-4200 Fourier Transform Infrarot Spektrometer (Golden Gate) in einem Wellenzahlbereich von 500 – 4000 cm⁻¹ durchgeführt. Die Proben wurden getrocknet und in fester Form bei Raumtemperatur gemessen.

j) *BET*

Die Brunauer-Emmett-Teller (BET) Oberfläche wurde mit einem Quadrasorb SI-MP von QUANTACHROME bestimmt und durch Mehrfachmessung in einem relativen Druckbereich von 0.05-0.15 mbar berechnet.

k) *XRD*

Röntgendiffraktometrie (X-ray Powder Diffraction) wurde an einem Philips PW 1800 Diffraktometer im Reflection Mode gemessen unter Verwendung von Cu K α λ = 1.5406 Å Bestrahlung und eines Post-sample-Monochromators.

l) *Zeta-Potential*

Das Zeta-Potential wurde an einem Zetasize Nano ZS von Malvern Instruments (Herrenberg, Deutschland) durchgeführt, ausgerüstet mit einem He-Ne-Laser (λ =632.8 nm). Die Dispersionen der Partikel in Ethanol wurden bei 298 K in 10 x 10 mm Polystyrol-Küvetten gemessen.

9.1.3 Chemikalien

Das für die automatisierte Festphasenpeptidsynthese verwendete Harz Fmoc Rink Amid AM Polystyrol (Beladung: 0.63 mmol/g) wurde von der Firma IRIS Biotech GmbH (Marktredwitz, Deutschland) bezogen. Die *N*- α -Fmoc-geschützten Aminosäuren Fmoc- β -Ala-OH, Fmoc-Gly-OH, Fmoc-Leu-OH, Fmoc-Lys(Boc)-OH, Fmoc-Phe-OH, Fmoc-Arg(Pbf)-OH, Fmoc-Asp(tBu)-OH, Fmoc-Pro-OH, Fmoc-Gln(Trt)-OH, Fmoc-Trp(Boc)-OH, Fmoc-Thr(tBu)-OH, 4'-((R,S)- α -[1-(9-Fluorenyl)methoxycarbonyl-amino]-2,4-dimethoxy-benzyl)-phenoxyessigsäure (Fmoc-Rink-Amid Linker), (Benzotriazol-1-yloxy)-tripyrrolidinophosphonium-hexafluorophosphat (PyBOP) und *N*-methyl-2-pyrrolidon (NMP, 99.9+%, peptide synthesis grade) wurden über die IRIS Biotech GmbH (Marktredwitz, Deutschland) erworben. *N,N*-Diisopropylethylamin (DIPEA; Sigma-Aldrich, 99%), Piperidin (99%, Acros, peptide grade), Triethylsilan (TES; Alfa Aesar, Karlsruhe, Deutschland, 98+%) wurden wie erworben eingesetzt. Trifluoressigsäure (TFA; Acros, peptide grade) wurde vor Verwendung destilliert. Dichlormethan (DCM, IRIS Biotech GmbH, peptide grade) wurde vor Gebrauch über CaH₂ getrocknet und anschließend destilliert. Dimethyl sulfoxide (DMSO; 99.8%) wurde bei der Carl Roth GmbH (Karlsruhe, Germany) bezogen.

Die Polymere mPEO-COOH mit den Molekulargewichten 2000 und 5000 Da wurden von Rapp Polymere GmbH (Tübingen, Deutschland) bezogen. Polyethylenimin (PEI) (polyethylenimine branched (M_w =800 Da), polyethylenimine solution (50 wt.% in H₂O) (M_w =2000 Da) und polyethylenimine branched (M_w =25000 Da)) wurden bei der Sigma-Aldrich GmbH (Deutschland) erworben. α CHCA (99 %) und DHB als Matrices für die MALDI-Messungen wurden ebenfalls über die Sigma-Aldrich GmbH (Germany) bezogen.

Eisen(III)acetylacetonat (97%), wasserfreier Benzylalkohol (99.8%), Tetraethoxysilan (TEOS) und (3-Aminopropyl)trimethoxysilan wurden bei der Sigma-Aldrich GmbH (Deutschland) erworben. Ammoniak-Lösung (25% in H₂O) wurde bei der Carl Roth GmbH (Karlsruhe, Deutschland) erworben. Absolutes Ethanol wurde bei VWR International (Darmstadt, Deutschland) gekauft.

Die Synthesereagenzien für die Oligonucleotidsynthese wurden bei der Carl Roth GmbH (Karlsruhe, Deutschland) oder bei Link Technologies Ltd. (Bellshill, Vereinigtes Königreich) erworben. Dazu gehören trockenes Acetonitril, 3% Trichloressigsäure in Dichlormethan, 16% 1-Methylimidazol in THF und Iod in Wasser/Pyridin/THF (3:2:20:75). Das Phosphoramidit DMT-dA(bz) wurde bei der Sigma-Aldrich GmbH (Deutschland) gekauft. Der Aktivator 5-Benzylmercapto-1H-tetrazol (BMT) wurde bei der EMP Biotech GmbH (Berlin, Deutschland) als 0.25 M Lösung in trockenem Acetonitril erworben.

9.1.4 Magnetische Sedimentation

Die magnetische Sedimentation der Partikel wurde mit einem Neodym-Eisen-Bor-Magneten der Firma Webcraft GmbH (Gottmadingen, Deutschland) mit einer Remanenz von 1.26 – 1.29 T durchgeführt.

9.2 Synthese von Fe₃O₄-Nanopartikeln

9.2.1 Synthese von Fe₃O₄-Nanopartikeln im Autoklaven (1)

Die Synthese von Fe₃O₄-Nanopartikeln im Autoklaven erfolgte an der ETH Zürich im Arbeitskreis von Prof. Noederberger. Unter inerten Bedingungen (O₂ und H₂O < 0.1 ppm) wurden 679 mg (1.9 mmol) Eisen(III)acetylacetonat in einen Autoklaven überführt und in 20 mL Pyrrolidon gelöst. Anschließend wurde der geschlossene Autoklav in einem Ofen für 24 Stunden bei 200° C erhitzt und dann auf Raumtemperatur abgekühlt. Die erhaltenen Partikel wurden bis zur weiteren Verwendung in Pyrrolidon gelagert.

Partikelgröße (TEM): d = 10±4 nm

9.2.2 Synthese von Fe₃O₄-Nanopartikeln in einem Mikrowellenreaktor (2)

Unter inerten Bedingungen (O₂ und H₂O < 0.1 ppm) wurden 140 mg (0.4 mmol) Eisen(III)acetylacetonat in einen 10 mL Mikrowellenglasreaktor mit zwei Magnetrührern überführt und in 4 mL trockenem Benzylalkohol gelöst. Der mit einer Teflon-Kappe verschlossene Reaktor wurde in einen Mikrowellenreaktor überführt und für 12 min auf 170° C bei 300 W und 2.45 GHz erhitzt. Anschließend wurde die Reaktionslösung bzw. der Reaktor mit Hilfe von Druckluft abgekühlt. Die erhaltenen Partikel wurden in Benzylalkohol als Dispersion bis zur weiteren Verwendung gelagert.

Zeta-Potential: ξ = +44.26 mV.

Partikeldurchmesser (TEM): d = 6±1 nm

Partikelhöhe (AFM): d = 9±3 nm

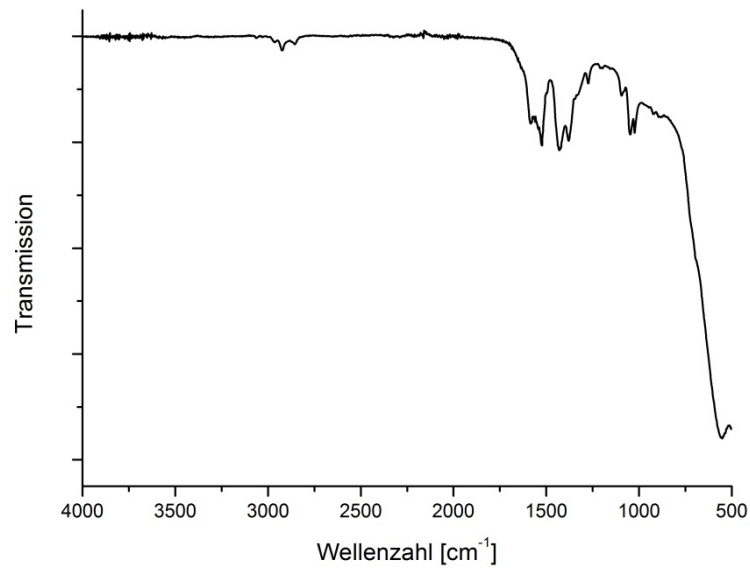


Abbildung 9.1. FT-IR-Spektrum von Fe₃O₄-Partikeln.

FT-IR (ν (cm⁻¹)): 2932 (w, Benzylalkohol), 1591 (m, Benzylalkohol), 1529 (m, Benzylalkohol), 1435 (m, Benzylalkohol), 1385 (m, Benzylalkohol), 1053 (w, Benzylalkohol), 1026 (w, Benzylalkohol _r), 570 (s, Fe-O Streckschwingung).

9.3 Synthese von Fe₃O₄@SiO₂-Nanopartikeln

9.3.1 Stabilisierung von Fe₃O₄-Nanopartikeln mit Polyvinylpyrrolidon (PVP)

In einem 250 mL-Dreihalskolben wurden 200 mg Dopaminhydrochlorid in 80 mL H₂O gelöst und dieser Lösung 60 mg Fe₃O₄-Nanopartikel (ETH Zürich), dispergiert in 3 mL Pyrrolidon, zugegeben. Anschließend wurden 220 mg Polyvinylpyrrolidon (K15) gelöst in 4 mL H₂O zur Dispersion gegeben und die Lösung 24 h bei Raumtemperatur mit einem KPG-Rührer kräftig gerührt. Im Anschluss wurden die Partikel mittels Zentrifugation vom Lösungsmittel getrennt und dreimal mit Ethanol gewaschen.

9.3.2 Synthese von ^{PVP}Fe₃O₄@SiO₂-Nanopartikeln (3)

20 mg des in 9.3.1 hergestellten Produkts wurden in 40 mL Methanol mittels Ultraschallstab (Stärke 15) dispergiert und in einen 100 mL-Zweihalskolben überführt. Unter starkem Rühren mittels KPG-Rührer wurden 2 mL NH₃ dazugegeben. Anschließend erfolgte achtmal alle 60 min die Zugabe von je 36 µl Tetraethylorthosilicat (TEOS). Das Gemisch wurde 24 h bei Raumtemperatur kräftig gerührt. Im Anschluss wurden die Partikel mittels Zentrifugation vom Lösungsmittel getrennt, jeweils dreimal mit H₂O und Ethanol gewaschen und im Vakuum getrocknet. Es wurden 29.2 mg beschichtete Partikel erhalten.

Zeta-Potential: ξ = -34.08 mV.

Partikeldurchmesser (TEM): Bestimmung aufgrund starker Agglomeratbildung nicht möglich

9.3.3 Synthese von Fe₃O₄@SiO₂-Nanopartikeln (4)

2 mL der in Benzylalkohol dispergierten Fe₃O₄-Partikel (9.2.2) wurden in einen 10 mL Mikrowellenglasreaktor mit zwei Magnetrührern überführt, die Partikel anschließend dreimal mit Ethanol gewaschen und anschließend 4 mL absolutem Ethanol dispergiert. Zur Trennung der flüssigen von der festen Phase wurden die Partikel magnetisch sedimentiert. Zur Dispersion wurden 1500 µl (16.5 M) Millipore-Wasser, 225 µl (1.0 mmol) TEOS und 180 µl (~0.5 M) Ammoniak unter starkem Rühren gegeben. Der mit einer Teflon-Kappe verschlossene Reaktor wurde in einen Mikrowellenreaktor überführt und für 3 min auf 60° C

100

bei 300 W und 2.45 GHz erhitzt. Anschließend wurde die Reaktionslösung bzw. der Reaktor mit Hilfe von Druckluft abgekühlt und die Partikel dreimal mit Ethanol gewaschen.

Zeta-Potential: $\xi = -38.08$ mV.

Partikeldurchmesser (TEM): $d = 67 \pm 9$ nm

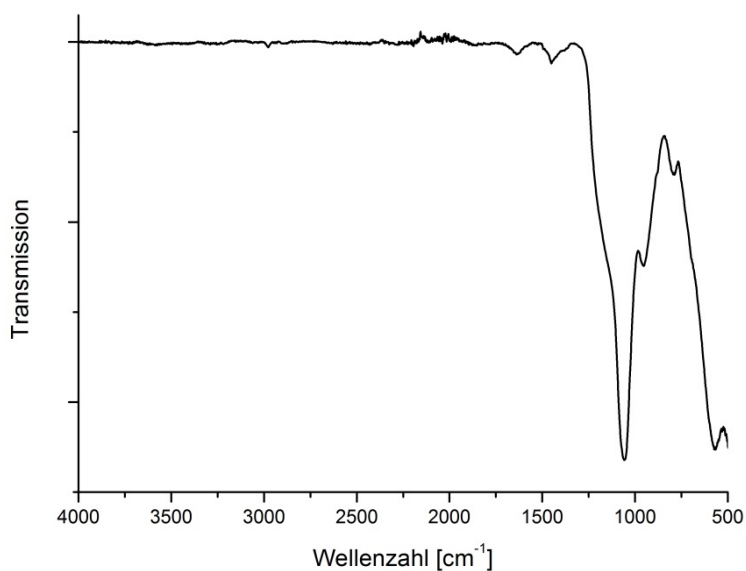


Abbildung 9.2. FT-IR-Spektrum von Fe₃O₄@SiO₂-Partikeln.

FT-IR (ν (cm⁻¹)): 1462 (w, Benzylalkohol), 1070 (s, SiO₂ Streckschwingung), 986 (m, SiO₂), 806 (m, SiO₂ Biegeschwingung), 586 (s, Fe-O Streckschwingung).

9.4 Synthese von $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{SiO}_2@\text{NH}_2$ -Nanopartikeln

9.4.1 Synthese von $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{SiO}_2@\text{NH}_2$ -Nanopartikeln (5)

20 mg $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{SiO}_2$ -Nanopartikel wurden in einen 10 mL Mikrowellenglasreaktor mit zwei Magnetrührern überführt und anschließend in 4 mL absolutem Ethanol dispergiert. Zur Trennung der flüssigen von der festen Phase wurden die Partikel magnetisch sedimentiert. Zur Dispersion wurden 1500 μL Millipore-Wasser (16.5 M), 500 μL (2.9 mmol) APTMS und 180 μL (~ 0.5 M) Ammoniak unter starkem Rühren gegeben. Der mit einer Teflon-Kappe verschlossene Reaktor wurde in einen Mikrowellenreaktor überführt und für 3 min auf 60°C bei 300 W und 2.45 GHz erhitzt. Anschließend wurde die Reaktionslösung bzw. der Reaktor mit Hilfe von Druckluft abgekühlt und die Partikel dreimal mit Ethanol gewaschen.

Zeta-Potential: $\xi = +41.14\text{ mV}$.

N_2 -Sorptionssmessung: $29.72\text{ m}^2/\text{g}$

Partikeldurchmesser (TEM): $d = 69 \pm 8\text{ nm}$

Beladung: 0.11 mmol/g

SAXS-Messung und –Auswertung (durchgeführt von Prof. Thünemann):

Die Bestimmung der *in situ* Nanopartikelstruktur wurde mit SAXS durchgeführt auf einem Längenbereich zwischen $\pi/q_{\max} = 1\text{ nm}$ und $\pi/q_{\min} = 80\text{ nm}$. Die resultierende Streukurve der $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{SiO}_2@\text{NH}-(\beta\text{Ala})_2@\text{Rink-Linker}$ Partikel ist in Abbildung 9.10 gezeigt (schwarze Linie).

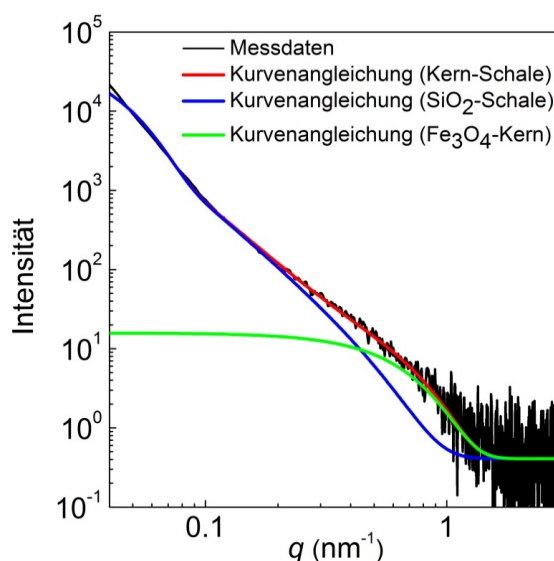


Abbildung 9.3. SAXS Messung einer Dispersion von $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{SiO}_2@\text{NH}-(\beta\text{Ala})_2@\text{Rink-Linker}$ Partikel. Die schwarze Linie zeigt die Messdaten, während die rot-gepunktete Linie eine Kurvenangleichung nach dem Exponential/Potenzfunktions-Ansatz darstellt. Der Streubeitrag der Fe_3O_4 -Kerne und der SiO_2 -Schale sind mit einbezogen (jeweils grüne und blaue Linie).

An der Form der Kurve ist zu erkennen, dass die zweite Schale mit $\text{NH}-(\beta\text{Ala})_2\text{@Rink-Linker}$ mit SAXS nicht erkennbar ist. Dies ist aber auch zu erwarten, da der Kontrast der Röntgenstreuung des organischen Materials circa zwei Größenordnungen kleiner ist, als der Kontrast der anorganischen SiO_2 -Schale und auch des Fe_3O_4 -Kerns. Die Kurve zeigt einen bestimmten Guinier-Bereich bei q -Werten unter 0.07 nm^{-1} , was auf definierte Nanopartikel und auch das Fehlen von Aggregaten schließen lässt. Die Intensitäten steigen charakteristisch mit $q^{-2.6}$ im Bereich um $q = 0.2 \text{ nm}^{-1}$ und mit q^{-4} bei $q = 1.0 \text{ nm}^{-1}$. Der q^{-4} Intensitätsabfall zeigt das klassische Porod-Gesetz,^[277] welches gültig sein muss für Fe_3O_4 -Nanoartikel mit einem scharfen Dichte-Übergang zwischen dem Fe_3O_4 -Kern und der SiO_2 -Schale. Im Gegensatz zum Fe_3O_4 -Kern zeigt der $q^{-2.6}$ Intensitätsabfall im mittleren q -Bereich eine typisch fraktale Struktur. Hier wird das Fehlen eines weiteren q^{-4} Intensitätsabfalls darin begründet, dass eine inhomogene SiO_2 -Schale vorliegt, die dazu eine raue Oberfläche besitzt, was in TEM-Bildern erkennbar ist. Es ist kaum möglich die Kurven mit einfachen Kern-Schale-Modellen ausreichend anzupassen, da diese einheitliche Dichten von Kern und Schale voraussetzen.^[278] Diese Modelle zeigen signifikante Abweichungen im Bereich von $q = 0.2 \text{ nm}^{-1}$, was bei einer unterschiedlichen Dichte der Schale zum Kern auch zu erwarten ist.

Eine quantitative Beschreibung der SAXS Kurven ist über das Beaucage-Modell möglich, dass für Systeme mit verschiedenen Formen der hierarchischen Anordnung im Nanometerbereich entwickelt wurde.^[279] Die Charakteristik der Streuung eines Nanopartikels, der aus kleinen Kernen und großen Schalen besteht, kann über eine funktionale Form von zwei Guinier $\left(I(q) = G \exp\left[-\frac{1}{3}R_g^2 q^2\right]\right)$ und zwei Potenzgesetz-Bereiche $(I(q) = Bq^{-P})$ beschrieben werden. Beaucage zeigte eine Möglichkeit, wie ein fließender Übergang zwischen Guinier und eines Potenzfunktion-Bereichs realisiert werden kann, also einen multiplikativen Ansatz von Exponential- und Potenzfunktionen, was als Exponential/Potenzfunktions-Ansatz zusammengefasst werden kann.^[279] Dabei werden Guinier- und Potenzfunktionsordnungen für eine beliebige Anzahl von Strukturabschnitten kombiniert. Auf das vorhandene System angewendet, gibt es zwei hierarchische Abschnitte: einen der großen, inhomogenen SiO_2 -Schale (Kennzeichnung: 1) und einen des kleinen Fe_3O_4 -Kerns (Kennzeichnung: 2). Dabei wird die Streuung bei dieser Struktur wie folgt beschrieben:

$$I(q) = G_1 \exp\left(-\frac{q^2 R_{g,1}^2}{3}\right) + B_1 \exp\left(-\frac{q^2 R_{g,1}^2}{3}\right) \left\{ \left[\text{erf}\left(q R_{g,1} 6^{-\frac{1}{2}}\right) \right]^3 q^{-1} \right\}^{p_1} + G_2 \exp\left(-\frac{q^2 R_{g,2}^2}{3}\right) + B_2 \left\{ \left[\text{erf}\left(q R_{g,2} 6^{-\frac{1}{2}}\right) \right]^3 q^{-1} \right\}^{p_2} + bkg$$

Dabei ist $R_{g,1}$ der Guinier-Gyrationsradius der SiO_2 -Schale und $R_{g,2}$ der des Fe_3O_4 -Kerns. G_1 und G_2 bezeichnen Guinier-Faktoren, B_1 und B_2 Potenzfunktion-Faktoren, wobei p_1 und p_2

die jeweiligen Potenzfunktion-Exponenten darstellen. Hintergrundstreuung, die von Dichtefluktuationen stammt, wird als Konstante *bkg* berücksichtigt.

Die Streumessungsdaten können mit dem vereinigten Exponential/Potenzfunktions-Ansatz gut beschrieben werden (Abbildung 9.10, schwarze und rote Linie). Dabei wird von den $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{SiO}_2@\text{NH}-(\beta\text{Ala})_2@\text{Rink}$ -Linker Partikeln der Streuungsbeitrag der Fe_3O_4 -Kerne und der SiO_2 -Schale einzeln modellhaft aufgezeigt (blaue und grüne Linie). Die errechneten Gyrationradien der Fe_3O_4 -Kerne haben einen Wert von 2.7 ± 0.1 nm. Die Breite der Kerngrößenverteilung wurde nach Beaucage auf $\sim 10\%$ berechnet. [263, 280] Der Kerndurchmesser liegt bei 6.9 ± 0.3 nm, wenn der dieser über $d = 2 \cdot \left(\frac{5}{3}\right)^{\frac{1}{2}} R_g$ berechnet wird. Dies bestätigt sehr gut die über TEM erhaltenen Daten. Die Gyrationradien der SiO_2 -Schalen betragen 45 ± 1 nm. Die Größenverteilung der Schalen ist viel breiter als bei den Kernen, kann allerdings nicht bestimmt werden, da die Schalen nicht mit dem Porod-Gesetz zu beschreiben sind.[263] Der Intensitäts-gewichtete SiO_2 -Schalendurchmesser liegt bei etwa 110 nm. Dieser Wert liegt höher als die über TEM erhaltenen Daten. Allerdings passen diese SAXS- und TEM-Ergebnisse gut zusammen, wenn man in Betracht zieht, dass Intensitäts-gewichtete Durchmesser größer sein müssen, als Zahlen-gewichtete für fein verteilte Proben. Der Wert für p_1 beträgt 2.58 ± 0.03 , woraus auf eine inhomogene SiO_2 -Struktur der Schale geschlossen werden kann. p_2 wurde konstant bei 4 gehalten, um eindeutige Berechnungen zu erhalten.

Theoretische Beladung der Partikeloberfläche mit Aminofunktionen:

Das theoretische Volumen und die theoretische Oberfläche der $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{SiO}_2@\text{NH}_2$ -Nanopartikel lassen sich durch den ermittelten Durchmesser der Partikel ($d=70$ nm) einfach berechnen:

$$V = \frac{4}{3} \cdot \pi \cdot r^3 = \frac{1}{6} \cdot \pi \cdot d^3$$

$$A = 4 \cdot \pi \cdot r^2 = \pi \cdot d^2$$

Partikel (70 nm)		
Volumen	179594	nm ³
Oberfläche	15393	nm ²

Über die Dichte von Silica ($\rho = 2.66$ g/cm³) kann nun das Gewicht eines Partikels mit einem Durchmesser von 70 nm berechnet werden. Dabei kann der Magnetitkern vernachlässigt

werden, da dieser bei einer durchschnittlichen Größe von 6 nm weniger als ein Tausendstel des Gewichtes ausmachen würde.

$$m_{70nm-Partikel} = \rho_{Silica} \cdot V_{70nm-Partikel} = 4.78 \cdot 10^{-16} g$$

Bei einer Beladung von 0.11 mmol/g kann nun die durchschnittliche Beladung eines einzelnen Partikels über die Avogadro-Konstante ($N_A = 6.022 \cdot 10^{23} \text{ mol}^{-1}$) bestimmt werden:

$$\begin{aligned} \text{Amino} - \text{Funktionen}_{70nm-Partikel} &= \text{Beladung} \cdot m_{70nm-Partikel} \cdot N_A \\ &= 0.11 \frac{\text{mmol}}{g} \cdot 4.78 \cdot 10^{-16} \cdot 6.022 \cdot 10^{23} \text{ mmol}^{-1} \\ &= 3.17 \cdot 10^4 \end{aligned}$$

Wird diese Zahl ins Verhältnis zur errechneten Oberfläche gesetzt, erhält man die Anzahl Amino-Funktionen pro nm^2 :

$$\frac{\text{Amino} - \text{Funktionen}}{\text{nm}^2} = \frac{3.17 \cdot 10^4}{1.54 \cdot 10^4 \text{ nm}^2} = 2.06 \text{ nm}^{-2}$$

Damit sind rein theoretisch betrachtet statistisch 2.06 Amino-Funktionen pro Quadratnanometer auf den Partikeln vorhanden. Mit dem durch N_2 -Sorption ermittelten reellen Oberflächenwert von $29.27 \text{ m}^2/\text{g}$ für die $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{SiO}_2@\text{NH}_2$ -Partikel. Der Verlauf der Messkurve ist dabei typisch für kleine Partikel (nahezu linear), aufgrund der stetig ansteigenden Aufnahme von Gas. Ein starker Anstieg am Ende des Verlaufs lässt auf ein unporöses Material mit großer äußerer Oberfläche schließen. Unter der Annahme eines kondensierten Silica-Netzwerks kann über die Dichte von SiO_2 ein Durchmesser von $\sim 76 \text{ nm}$ berechnet werden, was sich mit den gezeigten TEM-Ergebnissen deckt. Mit dem ermittelten reellen Oberflächenwert von $29.27 \text{ m}^2/\text{g}$ lässt sich eine realistische Beladung der Partikel mit Hilfe der Gleichungen 8 - 11 berechnen. Der gemessene Wert ergibt eine Oberfläche von 18160 nm^2 pro Partikel. Bei einer Beladung von 0.11 mmol/g sind damit statistisch 2.23 Amino-Funktionen pro Quadratnanometer auf den Partikeln vorhanden. Die Zahl liegt sehr nahe beim theoretisch ermittelten Wert.

9.5 Synthese von MagSilica@NH₂-Nanopartikeln

9.5.1 Synthese von MagSilica@NH₂-Nanopartikeln (6)

MagSilica®-Nanopartikel (50 mg) wurden in einen 10 mL Mikrowellenglasreaktor mit zwei Magnetrührern überführt und anschließend in 2 mL absolutem Ethanol dispergiert. Zur Trennung der flüssigen von der festen Phase wurden die Partikel magnetisch sedimentiert. Zur Dispersion wurden 750 µl Millipore-Wasser, 500 µl APTMS und 90 µl Ammoniak unter starkem Rühren gegeben. Der mit einer Teflon-Kappe verschlossene Reaktor wurde in einen Mikrowellenreaktor überführt und für 3 min auf 60 °C bei 300 W und 2.45 GHz erhitzt. Anschließend wurde die Reaktionslösung bzw. der Reaktor mit Hilfe von Druckluft auf 50 °C abgekühlt und die Partikel dreimal mit Ethanol gewaschen.

Zeta-Potential (MagSilica): $\xi = -22.50$ mV.

Zeta-Potential (MagSilica@NH₂): $\xi = +28.40$ mV.

Partikeldurchmesser (TEM): $d = 31 \pm 2$ nm

Beladung: 0.10 mmol/g

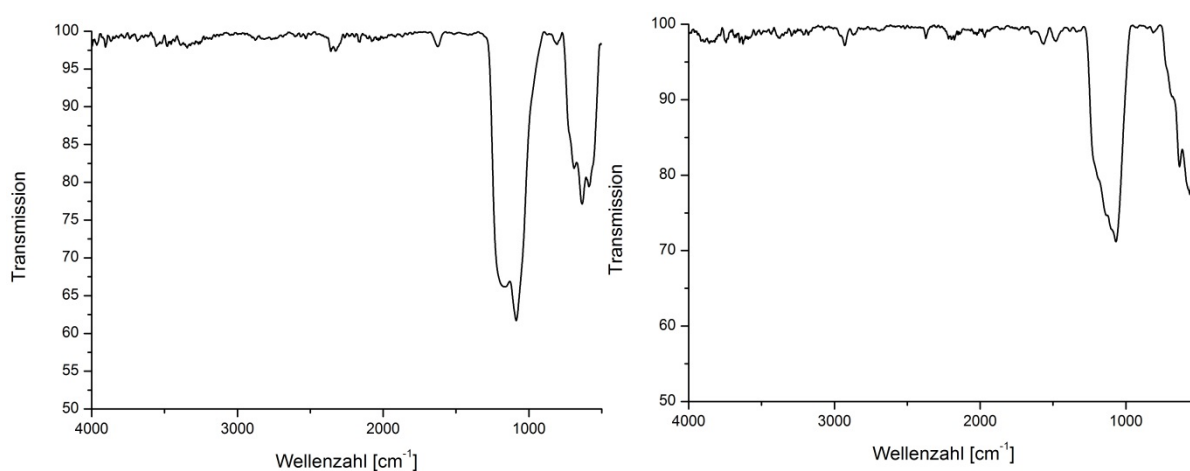


Abbildung 9.4. FT-IR-Spektren von MagSilica- (links) und MagSilica@NH₂-Partikeln (rechts).

FT-IR MagSilica (ν (cm⁻¹)): 2340 (w, SiO₂), 1622 (w, SiO₂), 1179 (s, SiO₂), 1085 (s, SiO₂), 808 (w, SiO₂), 690 (s, γ -Fe₂O₃), 635 (s, γ -Fe₂O₃), 588 (s, γ -Fe₂O₃)

FT-IR MagSilica@NH₂ (ν (cm⁻¹)): 2932 (w, Alkyl), 2872 (w, Alkyl), 2374 (w, SiO₂), 2189 (w, Amin), 1647 (w, SiO₂), 1564 (w, Amin), 1480 (w, Alkyl), 1068 (s, SiO₂), 808 (w, SiO₂), 631 (s, γ -Fe₂O₃), 558 (s, γ -Fe₂O₃)

9.6 Stabilitätsuntersuchungen

9.6.1 TFA/DCM

Die Fe_3O_4 - und die $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{SiO}_2$ -Nanopartikel wurden jeweils in einer Lösung aus TFA/DCM (1:1) dispergiert. Nach 1 min, 10 min, 30 min, 60 min und 180 min wurde jeweils UV-spektrometrisch der Absorptionswert der Lösung bei 420 nm nach magnetischer Sedimentation aufgezeichnet.

9.6.2 Piperidin/NMP

Die Fe_3O_4 - und die $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{SiO}_2$ -Nanopartikel wurden jeweils in einer Lösung aus aus Piperidin/NMP (1:4) dispergiert. Nach 1 min, 10 min und 180 min wurde jeweils UV-spektrometrisch der Absorptionswert der Lösung bei 420 nm nach magnetischer Sedimentation aufgezeichnet.

9.6.3 Fmoc-4-ABZ-OH (7)

$\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{SiO}_2@\text{NH}_2$ -Partikel wurden in einer Lösung aus 108 mg (300 μmol) Fmoc-4-Abz-OH, 156 mg (300 μmol) PyBOP und 157 μL (900 μmol) DIPEA in 10 mL NMP dispergiert. Das Reaktionsgemisch wurde über Nacht geschüttelt und die feste Phase mittel magnetischer Sedimentation von der Lösung getrennt. Nach Entfernung der Fmoc-Schutzgruppe mit einer Lösung aus Piperidin in NMP (1:4) wurden die Partikel in einer Lösung aus aus Piperidin/NMP (1:4) dispergiert. Nach 0 min, 10 min und 20 min wurde jeweils UV-spektrometrisch der Absorptionswert der Lösung bei 340 nm nach magnetischer Sedimentation aufgezeichnet.

9.7 Organische Funktionalisierung von $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{SiO}_2@\text{NH}_2$ -Nanopartikeln

9.7.1 Synthese von $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{SiO}_2@\text{NH}-(\beta\text{Ala})_2$ -Rink-Linker-Partikeln (8)

50 mg $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{SiO}_2@\text{NH}_2$ -Partikel wurden in einer Lösung aus 93 mg (300 μmol) Fmoc- β -Alanin, 156 mg (300 μmol) PyBOP und 157 μL (900 μmol) DIPEA in 10 mL NMP dispergiert. Das Reaktionsgemisch wurde über Nacht geschüttelt und die feste Phase mittel magnetischer Sedimentation von der Lösung getrennt. Nach Entfernung der Fmoc-Schutzgruppe mit einer Lösung aus Piperidin in NMP (1:4) wurde die Reaktion wiederholt. Die erhaltenen $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{SiO}_2@\text{NH}-(\beta\text{Ala})_2$ -Partikel wurden in einer Lösung 162 mg (300 μmol) Fmoc-Rink-Amid Linker, 156 mg (300 μmol) PyBOP und 157 μL (900 μmol) DIPEA in 10 mL NMP dispergiert. Das Reaktionsgemisch wurde über Nacht geschüttelt und die feste Phase mittel magnetischer Sedimentation von der Lösung getrennt. Die erhaltenen Partikel wurden mit NMP und DCM gewaschen und anschließend als feste Phase in der SPPS eingesetzt. Quantitative Fmoc-Analyse mit einer Lösung aus Piperidin in NMP (1:4) zeigte eine Konzentration von 0.08 mmol freie Aminofunktionen pro Gramm Partikel.

Beladung: 0.08 mmol/g

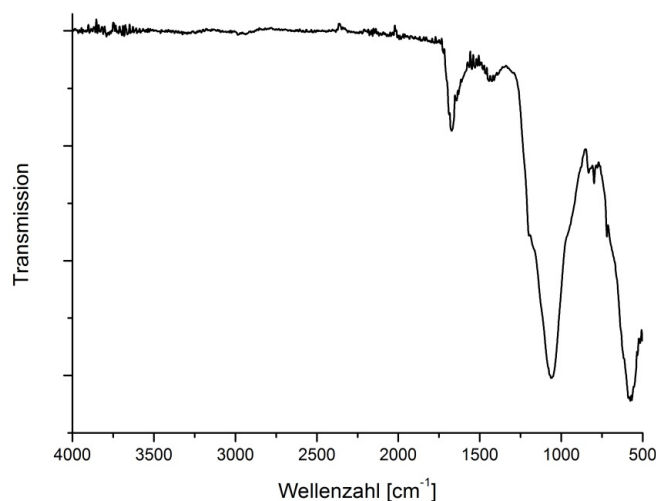


Abbildung 9.5. FT-IR-Spektrum von $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{SiO}_2@\text{NH}-(\beta\text{Ala})_2@\text{Rink-Linker-Partikel}$.

FT-IR ($\nu(\text{cm}^{-1})$): 1672 (w, Amid), 1548 (w, Amid), 1339 (w, C-H Deformationsschwingung), 1190 (m, SiO_2), 1063 (s, SiO_2), 850 (w, H_{Ar}), 771 (w, H_{Ar}), 713 (m, C_{Ar}), 580 (s, Fe-O Streckschwingung)

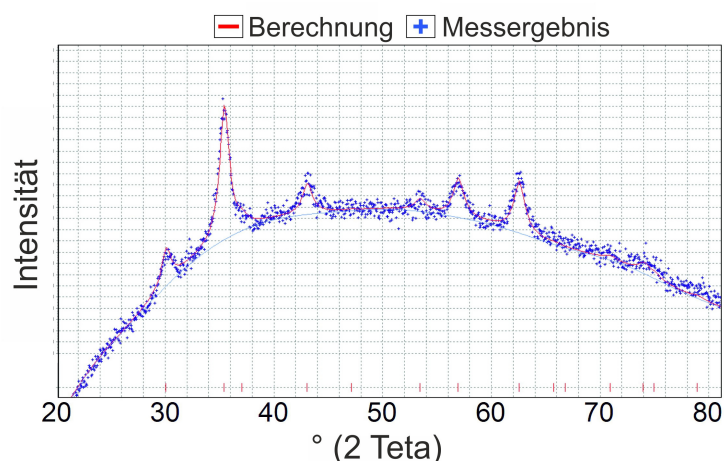


Abbildung 9.6. WAXS-Spektrum von $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{SiO}_2@\text{NH}-(\beta\text{Ala})_2@\text{Rink-Linker}$ -Partikeln im Vergleich zu berechneten Signalen von Magnetit. Die Größe der Magnetit-Kristalle wurde mittels Scherrer-Gleichung auf 9 nm bestimmt.

9.7.2 Synthese von $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{SiO}_2@\text{NH}-(\beta\text{Ala})_2-(\text{PEG})$ -Rink-Linker-Partikeln (9)

50 mg $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{SiO}_2@\text{NH}_2$ -Partikel wurden in einer Lösung aus 93 mg (300 μmol) Fmoc- β -Alanin, 156 mg (300 μmol) PyBOP und 157 μL (900 μmol) DIPEA in 10 mL NMP dispergiert. Das Reaktionsgemisch wurde über Nacht geschüttelt und die feste Phase mittel magnetischer Sedimentation von der Lösung getrennt. Nach Entfernung der Fmoc-Schutzgruppe mit einer Lösung aus Piperidin in NMP (1:4) wurde die Reaktion wiederholt. Die erhaltenen $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{SiO}_2@\text{NH}-(\beta\text{-Ala})_2$ -Partikel wurden in einer Lösung 300 mg (100 μmol) Fmoc-NH-PEG-OH ($M=3000$ Da), 52 mg (100 μmol) PyBOP und 52 μL (300 μmol) DIPEA in 10 mL NMP dispergiert. Das Reaktionsgemisch wurde über Nacht geschüttelt und die feste Phase mittel magnetischer Sedimentation von der Lösung getrennt. Nach Entfernung der Fmoc-Schutzgruppe mit einer Lösung aus Piperidin in NMP (1:4) wurden die $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{SiO}_2@\text{NH}-(\beta\text{-Ala})_2-(\text{PEG})$ -Partikel in einer Lösung 162 mg (300 μmol) Fmoc-Rink-Amid Linker, 156 mg (300 μmol) PyBOP und 157 μL (900 μmol) DIPEA in 10 mL NMP dispergiert. Das Reaktionsgemisch wurde über Nacht geschüttelt und die feste Phase mittel magnetischer Sedimentation von der Lösung getrennt. Die erhaltenen Partikel wurden mit NMP und DCM gewaschen. Quantitative Fmoc-Analyse mit einer Lösung aus Piperidin in NMP (1:4) zeigte eine Konzentration von 0.02 mmol freie Aminofunktionen pro Gramm Partikel.

Beladung: 0.02 mmol/g

9.8 Strategien zur Erhöhung der Konzentration der Amino-Funktionalitäten

9.8.1 Synthese von MagSilica@NH-(Lys)₃-Nanopartikeln (10)

50 mg MagSilica@NH₂-Partikel wurden in einer Lösung aus 177 mg (300 µmol) Fmoc-Lys(Fmoc)-OH, 156 mg (300 µmol) PyBOP und 157 µL (900 µmol) DIPEA in 10 mL NMP dispergiert. Das Reaktionsgemisch wurde für drei Stunden geschüttelt und die feste Phase mittel magnetischer Sedimentation von der Lösung getrennt. Nach Entfernung der Fmoc-Schutzgruppe mit einer Lösung aus Piperidin in NMP (1:4) wurde die Reaktion zweimal wiederholt. Die erhaltenen MagSilica@NH-(Lys)₃-Partikel wurden jeweils dreimal mit NMP und DCM gewaschen.

Zeta-Potential (MagSilica@NH-(Lys)₃): $\xi = +28.70$ mV.

Beladung: 0.19 mmol/g

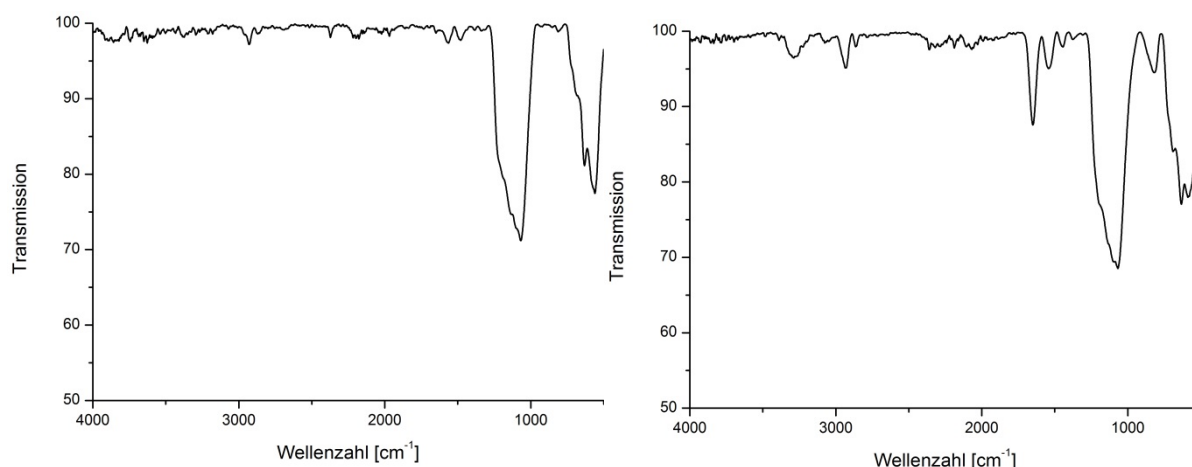


Abbildung 9.7. FT-IR-Spektren von MagSilica@NH₂- (links) und MagSilica@NH-(Lys)₃-Nanopartikeln (rechts).

FT-IR MagSilica@NH₂ (ν (cm⁻¹)): 2932 (w, Alkyl), 2872 (w, Alkyl), 2374 (w, SiO₂), 2189 (w, Amin), 1647 (w, SiO₂), 1564 (w, Amin), 1480 (w, Alkyl), 1068 (s, SiO₂), 808 (w, SiO₂), 631 (s, γ -Fe₂O₃), 558 (s, γ -Fe₂O₃)

FT-IR MagSilica@NH-(Lys)₃ (ν (cm⁻¹)): 3285 (m, Amid), 2930 (m, Alkyl), 2862 (w, Alkyl), 2318 (w, SiO₂), 2188 (s, Amin), 1649 (s, Amid), 1541 (m, Amin), 1444 (w, Alkyl), 1215 (s, SiO₂), 1068 (s, SiO₂), 820 (m, Alkyl), 690 (s, γ -Fe₂O₃), 631 (s, γ -Fe₂O₃), 574 (s, γ -Fe₂O₃)

9.8.2 Synthese von MagSilica@NH-IPDI-PEI_x-Nanopartikeln (11)

a) Synthese von MagSilica@NH-IPDI-Nanopartikeln

58 mg MagSilica@NH₂-Partikel wurden dreimal mit DMSO gewaschen, anschließend in 40 mL DMSO dispergiert und in einen 250 mL Kolben überführt. 105 µL Isophorondiisocyanat (IPDI) wurden hinzugegeben und die Reaktionslösung für 30 min geschüttelt. Die feste Phase wurde mittels magnetischer Sedimentation von der Lösung abgetrennt und dreimal mit DMSO gewaschen. Die MagSilica@NH-IPDI-Nanopartikel wurden anschließend in verschiedenen Kupplungsreaktionen mit Polyethylenimin eingesetzt.

Zeta-Potential: $\xi = +34.20$ mV

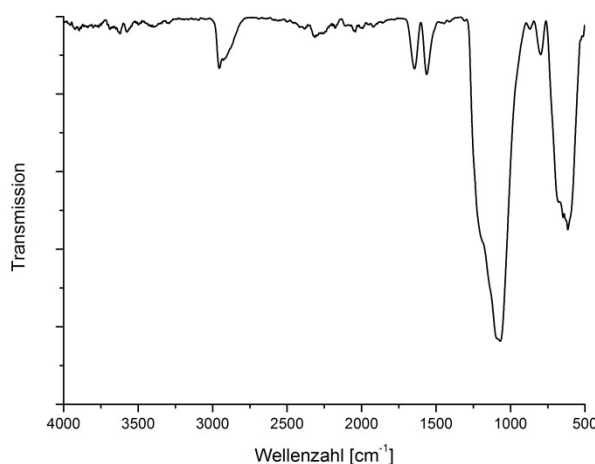


Abbildung 9.8. FT-IR-Spektrum von MagSilica@NH-IPDI-Nanopartikeln.

FT-IR (ν (cm⁻¹)): 2956 (m, alkyl), 2313 (w, SiO₂), 1644 (m, carbamide), 1563 (m, carbamide), 1078 (s, SiO₂), 796 (w, SiO₂), 615 (s, γ -Fe₂O₃)

b) Synthese von MagSilica@NH-IPDI-PEI₈₀₀-Nanopartikeln (mehrstufig)

50 mg MagSilica@NH-IPDI-Nanopartikel wurden dreimal mit DMSO gewaschen, anschließend in 80 mL DMSO dispergiert und in einen 250 mL Kolben überführt. 40 mg PEI (M_w=800 Da) wurden in 10 mL DMSO gelöst und tropfenweise innerhalb von 10 min zur Partikel-Dispersion gegeben. Die Dispersion wurde bei Raumtemperatur über Nacht gerührt. Anschließend wurde eine Lösung von 0.5 mL Ethanolamin in 20 mL DMSO zum Quenchen hinzugegeben und für 1 h gerührt. Die MagSilica@NH-IPDI-PEI₈₀₀-Nanopartikel wurde mittels magnetischer Sedimentation von der Lösung abgetrennt und dreimal mit DMSO gewaschen.

Beladungsbestimmung: 0.05 mmol/g

c) *Synthese von MagSilica@NH-IPDI-PEI₂₀₀₀-Nanopartikeln (mehrstufig)*

50 mg MagSilica@NH-IPDI-Nanopartikel wurden dreimal mit DMSO gewaschen, anschließend in 80 mL DMSO dispergiert und in einen 250 mL Kolben überführt. 100 mg PEI-Lösung (50 wt.% in H₂O, M_W=2000 Da) wurden in 10 mL H₂O gelöst und tropfenweise innerhalb von 10 min zur Partikel-Dispersion gegeben. Die Dispersion wurde bei Raumtemperatur über Nacht gerührt. Anschließend wurde eine Lösung von 0.5 mL Ethanolamin in 20 mL DMSO zum Quenchen hinzugegeben und für 1 h gerührt. Die MagSilica@NH-IPDI-PEI₂₀₀₀-Nanopartikel wurde mittels magnetischer Sedimentation von der Lösung abgetrennt und dreimal mit DMSO gewaschen.

Beladungsbestimmung: 0.05 mmol/g

d) *Synthese von MagSilica@NH-IPDI-PEI₂₅₀₀₀-Nanopartikeln (mehrstufig)*

50 mg MagSilica@NH-IPDI-Nanopartikel wurden dreimal mit DMSO gewaschen, anschließend in 80 mL DMSO dispergiert und in einen 250 mL Kolben überführt. 1240 mg PEI (M_W=25000 Da) wurden in 10 mL DMSO gelöst und tropfenweise innerhalb von 10 min zur Partikel-Dispersion gegeben. Die Dispersion wurde bei Raumtemperatur über Nacht gerührt. Anschließend wurde eine Lösung von 0.5 mL Ethanolamin in 20 mL DMSO zum Quenchen hinzugegeben und für 1 h gerührt. Die MagSilica@NH-IPDI-PEI₂₅₀₀₀-Nanopartikel wurde mittels magnetischer Sedimentation von der Lösung abgetrennt und dreimal mit DMSO gewaschen.

Beladungsbestimmung: 0.18 mmol/g

e) *Synthese von MagSilica@NH-IPDI-PEI₈₀₀-Nanopartikeln (Eintopf-Reaktion)*

50 mg MagSilica@NH₂-Partikel wurden dreimal mit DMSO gewaschen, anschließend in 5 mL DMSO dispergiert und in einen 12 mL Zentrifugenröhrchen überführt. 5.2 µL Isophorondiisocyanat (IPDI) wurden hinzugegeben und die Reaktionslösung für 30 min geschüttelt. 80 mg PEI (M_W=800 Da) wurden in 4 mL DMSO gelöst und zur Partikel-Dispersion gegeben. Die Dispersion wurde bei Raumtemperatur über Nacht geschüttelt. Die MagSilica@NH-IPDI-PEI₈₀₀-Nanopartikel wurde mittels magnetischer Sedimentation von der Lösung abgetrennt und dreimal mit Ethanol gewaschen.

Beladungsbestimmung: 0.04 mmol/g

f) Synthese von MagSilica@NH-IPDI-PEI₂₀₀₀-Nanopartikeln (Eintopf-Reaktion)

50 mg MagSilica@NH₂-Partikel wurden dreimal mit DMSO gewaschen, anschließend in 5 mL DMSO dispergiert und in einen 12 mL Zentrifugenröhrchen überführt. 5.2 µL Isophorondiisocyanat (IPDI) wurden hinzugegeben und die Reaktionslösung für 30 min geschüttelt. 200 mg PEI-Lösung (50 wt.% in H₂O, M_W=2000 Da) wurden in 4 mL H₂O gelöst und zur Partikel-Dispersion gegeben. Die Dispersion wurde bei Raumtemperatur über Nacht geschüttelt. Die MagSilica@NH-IPDI-PEI₂₀₀₀-Nanopartikel wurde mittels magnetischer Sedimentation von der Lösung abgetrennt und dreimal mit Ethanol gewaschen.

Beladungsbestimmung: 0.08 mmol/g

g) Synthese von MagSilica@NH-IPDI-PEI₂₅₀₀₀-Nanopartikeln (Eintopf-Reaktion)

50 mg MagSilica@NH₂-Partikel wurden dreimal mit DMSO gewaschen, anschließend in 5 mL DMSO dispergiert und in einen 12 mL Zentrifugenröhrchen überführt. 5.2 µL Isophorondiisocyanat (IPDI) wurden hinzugegeben und die Reaktionslösung für 30 min geschüttelt. 2.5 g PEI (M_W=25000 Da) wurden in 4 mL DMSO gelöst und zur Partikel-Dispersion gegeben. Die Dispersion wurde bei Raumtemperatur über Nacht geschüttelt. Die MagSilica@NH-IPDI-PEI₂₅₀₀₀-Nanopartikel wurde mittels magnetischer Sedimentation von der Lösung abgetrennt und dreimal mit Ethanol gewaschen.

Beladungsbestimmung: 0.08 mmol/g

Zeta-Potential: $\xi = +31.50$ mV

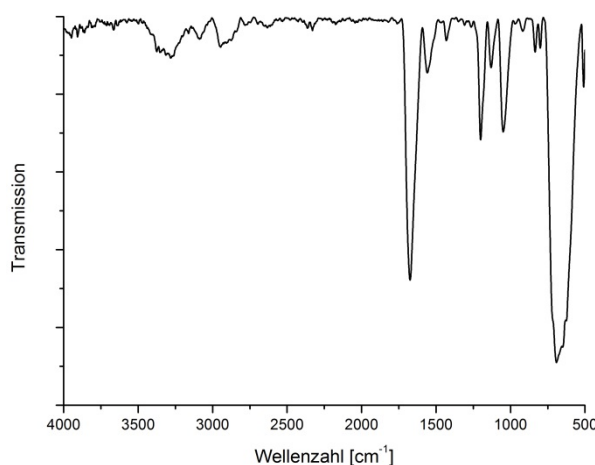


Abbildung 9.9. FT-IR-Spektrum von MagSilica@NH-IPDI-PEI₂₅₀₀₀-Nanopartikeln.

FT-IR (ν (cm^{-1})): 3327 (w, amine), 3086 (w, amide), 2951 (w, alkyl), 1674 (s, carbamide), 1559 (w, amine), 1429 (w, alkyl), 1200 (m, SiO_2), 1132 (w, SiO_2), 1048 (m, SiO_2), 835 (w, SiO_2), 800 (w, SiO_2), 692 (s, $\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$)

h) Stabilitätsuntersuchungen von MagSilica@NH₂- und MagSilica@NH-IPDI-PEI₂₅₀₀₀-Nanopartikeln in TFA/DCM

Die MagSilica@NH-IPDI-PEI₂₅₀₀₀-Nanopartikel wurden in einer Lösung aus TFA/DCM (1:1) dispergiert. Nach 10 min, 120 min und 180 min wurde jeweils UV-spektrometrisch der Absorptionswert der Lösung bei 420 nm nach magnetischer Sedimentation aufgezeichnet.

i) Stabilitätsuntersuchungen von MagSilica@NH₂- und MagSilica@NH-IPDI-PEI₂₅₀₀₀-Nanopartikeln in Piperidin/NMP

Die MagSilica@NH-IPDI-PEI₂₅₀₀₀-Nanopartikel wurden in einer Lösung aus aus Piperidin/NMP (1:4) dispergiert. Nach 10 min, 120 min und 180 min wurde jeweils UV-spektrometrisch der Absorptionswert der Lösung bei 420 nm nach magnetischer Sedimentation aufgezeichnet.

9.9 Allgemeine Peptidsynthese

9.9.1 Automatisierte Festphasenpeptidsynthese nach der Fmoc-Strategie an Rink-Amid-Polystyrol-Harz

Die Kupplung der geschützten Aminosäuren nach der Fmoc-Strategie erfolgte in Ansätzen von 0.1 mmol an einem festen Träger mit NMP als Lösungsmittel. Zunächst wurde das Rink-Amid-PS-Harz mit CH_2Cl_2 gewaschen und in NMP vorgequollen. Vor jedem Kupplungsschritt einer neuen Aminosäure an das Harz/Peptid wurde die Fmoc-Schutzgruppe mit Piperidin/NMP (1:4) entfernt und die Absorption des entstehenden Dibenzofulven-Piperidin-Adduktes UV-Vis-spektroskopisch quantifiziert. Lösen und Aktivieren der C-terminalen Carboxylgruppe der neuen Aminosäure erfolgte in einer Kartusche mittels HBTU, wobei die Reaktion basisch durch DIPEA katalysiert wurde.

Ein einfacher Kupplungszyklus ist allgemein in Tabelle 9.1 aufgeführt:

Tabelle 9.1. Allgemeiner Kupplungszyklus gemäß der Fastmoc ABI-Protokolle. R = Reaktor mit Harz, K = Kartusche mit Aminosäure.

Schritt	Prozess	Reagenzien	Zeit [min]
1	Fmoc-Abspaltung ^R	2x 1 mL Piperidin/NMP (1:4)	2.9
2	Waschen ^R	4x 2.5 mL NMP	2.5
3	Lösen der Aminosäure ^K	1 mmol Fmoc-Aminosäure-OH, 0.45 M HBTU in NMP	7.6
4	Aktivierung ^K	1 mL 2 M DIPEA in NMP mit Transfer der Aminosäure zum Harz	2.1
5	Kupplung ^R	Kupplung mit anschließendem Waschschrift	45.0

Bei der automatisierten Festphasenpeptidsynthese wurden Einfachkupplungen durchgeführt. Im anschließenden Cappingschritt mit 4.0 mL Cappinglösung (9.5 mL Ac_2O , 4.5 mL DIPEA, 0.40 g HOBt in 200 mL NMP) für 5 Minuten wurden nicht gekuppelte N-Termini acyliert. Nach der finalen Fmoc-Abspaltung wurde das Harz mit DCM gewaschen und in weiteren Kupplungs- oder Abspaltungsschritten verwendet.

Entschützung und Abspaltung vom polymeren Träger

Die gemäß Abschnitt 9.9.1 synthetisierten Peptide wurden mit 25 mL einer Lösung aus TFA/DCM (50:50) zweimal für jeweils drei Stunden abgespalten. Anschließend erfolgte die Isolierung des Rohprodukts durch Ausfällen aus kaltem Diethylether und nachfolgender Abtrennung durch Zentrifugation. Zur Reinigung wurde der Rückstand zweimal in 200 µl TFA gelöst, erneut aus kaltem Diethylether ausgefällt und anschließend unter vermindertem Druck eingeeengt. Das Rohprodukt wurde über Nacht im Vakuum getrocknet.

9.9.2 Allgemeiner Syntheseablauf an Kern-Schale-Nanopartikeln

Die Kupplung der geschützten Aminosäuren erfolgte nach der Fmoc-Strategie. Vor jedem Kupplungsschritt einer neuen Aminosäure an die Partikel wurde die Fmoc-Schutzgruppe mit Piperidin/NMP (1:4) entfernt und die Absorption des entstehenden Dibenzofulven-Piperidin-Adduktes UV-Vis-spektroskopisch quantifiziert. Lösen und Aktivieren der C-terminalen Carboxylgruppe der neuen Aminosäure erfolgte in einem Reaktor mittels PyBOP, wobei die Reaktion basisch durch DIPEA katalysiert wurde.

Ein einfacher Kupplungszyklus ist allgemein in Tabelle 9.2 aufgeführt:

Tabelle 9.2. Allgemeiner Kupplungszyklus an Kern-Schale-Nanopartikel. R = Reaktor mit Partikeln, K = Kartusche mit Aminosäure.

Schritt	Prozess	Reagenzien	Zeit [min]
1	Fmoc-Abspaltung ^R	2x 1 mL Piperidin/NMP (1:4)	5.0
2	Waschen ^R	3x 2 mL NMP, 3x 2 mL DCM, 3x 2 mL NMP	4.5
3	Lösen und Aktivierung der Aminosäure ^K	1 eq Fmoc-Aminosäure-OH, 1 eq PyBOP, 3 eq DIPEA in NMP	5.0
4	Kupplung ^R	Kupplung mit anschließendem Waschschrift	180.0

Bei den Festphasenpeptidsynthesen an den Kern-Schale-Nanopartikeln wurden Einfachkupplungen durchgeführt. Ein Cappingschritt wurde nicht durchgeführt. Nach der finalen Fmoc-Abspaltung wurden die Partikel mit DCM gewaschen und in weiteren Kupplungs- oder Abspaltungsschritten verwendet.

Entschützung und Abspaltung von Kern-Schale-Nanopartikeln

Die gemäß Abschnitt 9.9.2 synthetisierten Peptide wurden mit 6 mL einer Lösung aus TFA/DCM (50:50) zweimal für jeweils drei Stunden abgespalten. Anschließend erfolgte die Isolierung des Rohprodukts durch Ausfällen aus kaltem Diethylether und nachfolgender Abtrennung durch Zentrifugation. Zur Reinigung wurde der Rückstand zweimal in 200 µl TFA gelöst, erneut aus kaltem Diethylether ausgefällt und anschließend unter vermindertem Druck eingeeengt. Das Rohprodukt wurde über Nacht im Vakuum getrocknet.

9.10 Peptidsynthese an $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{SiO}_2@\text{NH}_2$ -Nanopartikeln

9.10.1 Synthese von $\text{H}_2\text{N-Phe-Lys-Leu-Gly-CONH}_2$ (12)

Zur Synthese des Peptids wurden kommerziell erhältliche Fmoc-Aminosäuren via Standardprotokoll 9.9.2 an die feste Phase in einem Erlenmeyerkolben gekuppelt. Die Peptidsynthese wurde in NMP an 73 mg $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{SiO}_2@\text{NH-(}\beta\text{Ala)}_2@\text{Rink-Linker}$ Partikeln durchgeführt bei einer Ansatzgröße von 5.8 μmol . Zur Trennung der festen Phase von der flüssigen wurde ein externes Magnetfeld eingesetzt (Sedimentationszeit: 3 min). Nach der letzten Fmoc-Abspaltung wurde das Peptid von der festen Phase nach dem in 9.9.2 beschriebenen Protokoll abgespalten und isoliert.

Ausbeute: 1.9 mg (4.11 μmol , 70%) – 95% Reinheit nach HPLC-Auswertung

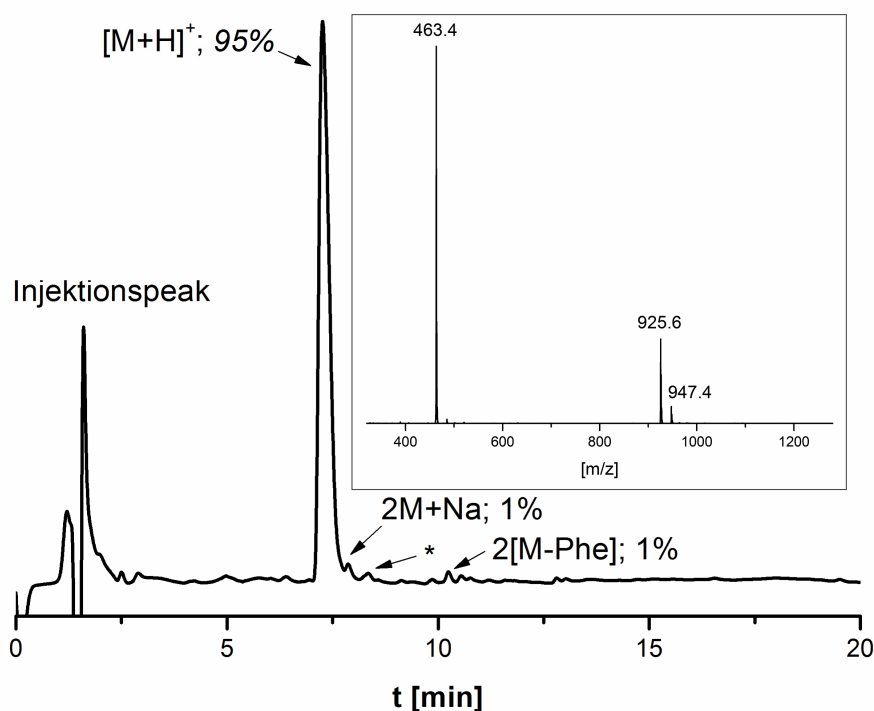


Abbildung 9.10. HPLC-Spur des synthetisierten Peptids $\text{H}_2\text{N-Phe-Lys-Leu-Gly-CONH}_2$ (Gradient: 3 - 50 % MeCN, RP- C_{18} -Säule, $\lambda=220$ nm; * = keine Massen detektiert).

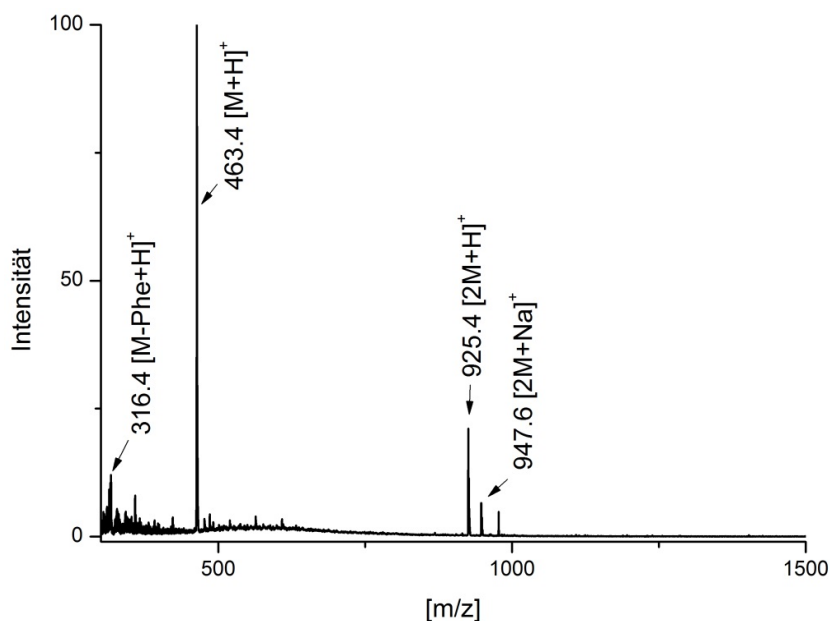


Abbildung 9.11. ESI-MS-Spektrum des synthetisierten Peptids $H_2N\text{-Phe-Lys-Leu-Gly-CONH}_2$. m/z (%): $M_{Th} = 462.29$ g/mol: 316.4 (9) ($[M\text{-Phe}+H]^+$); 463.4 (100) ($[M+H]^+$); 925.4 (21) ($[2M+H]^+$); 947.6 (7) ($[2M+Na]^+$).

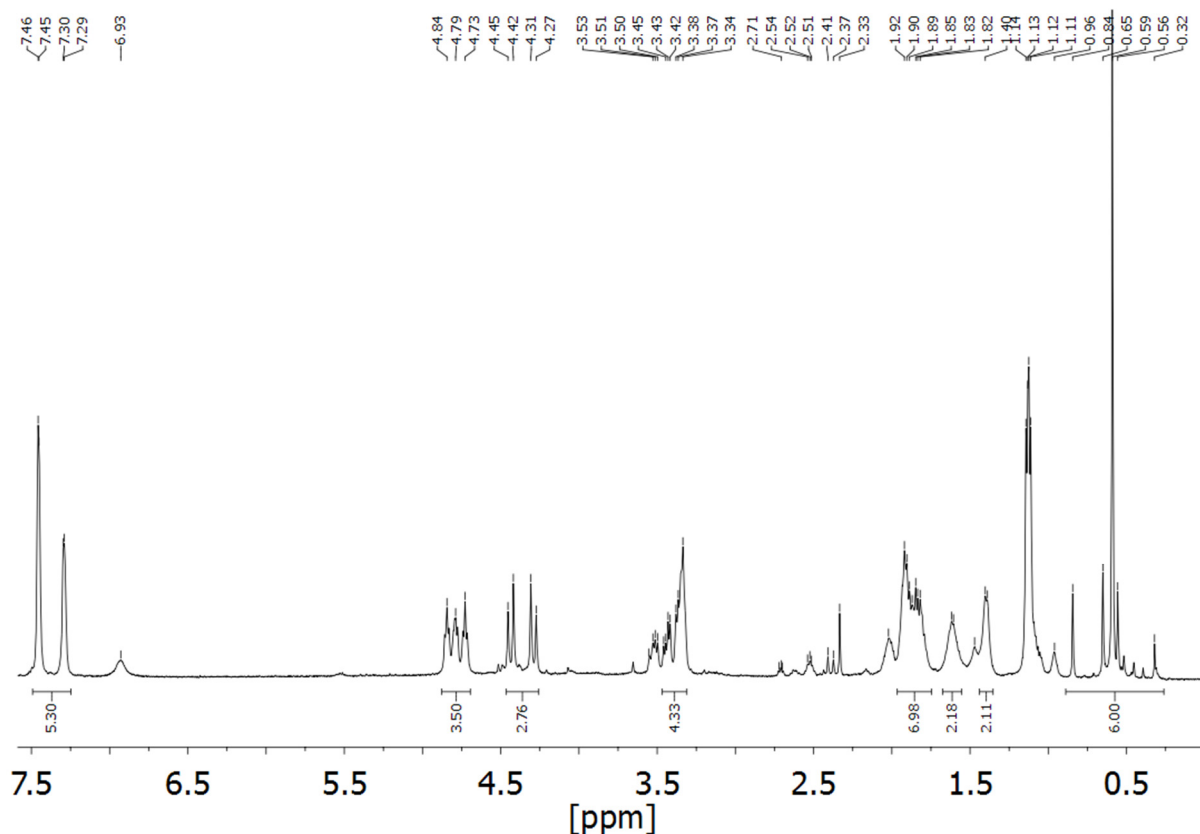


Abbildung 9.12. 1H -NMR-Spektrum des synthetisierten Peptids $H_2N\text{-Phe-Lys-Leu-Gly-CONH}_2$.

1H NMR: (500 MHz, TFA- d , δ in ppm) 7.46-7.29 (m, 5H, CH_{Ar} Phe), 4.84-4.73 (m, 2H, $C^\alpha H$ Leu, $C^\alpha H$ Lys), 4.45-4.27 (m, 1H, $C^\alpha H$ Phe), 3.55-3.34 (m, 4H, $C^\alpha H_2$ Gly, $C^\beta H_2$ Phe), 2.02-1.79 (m, 7H, $C^\beta H_2$ Leu, $C^\gamma H$ Leu, $C^\beta H_2$ Lys, $C^\epsilon H_2$ Lys), 1.62-1.61 (m, 2H, $C^\delta H_2$ Lys), 1.40-1.39 (m, 2H, $C^\gamma H_2$ Lys), 0.65-0.56 (m, 6H, $C^\gamma H_3$ Leu).

9.10.2 Synthese von $H_2N\text{-Gln-Thr-Thr-Thr-Trp-Gln-Asp-Pro-Arg-Lys-Gly-CONH}_2$ (13)

Zur Synthese des Peptids wurden kommerziell erhältliche Fmoc-Aminosäuren via Standardprotokoll 9.9.2 an die feste Phase in einem Erlenmeyerkolben gekuppelt. Die Peptidsynthese wurde in NMP an 70 mg $Fe_3O_4@SiO_2@NH-(\beta\text{Ala})_2@Rink\text{-Linker}$ Partikeln durchgeführt bei einer Ansatzgröße von 5.5 μmol . Zur Trennung der festen Phase von der flüssigen wurde ein externes Magnetfeld eingesetzt (Sedimentationszeit: 3 min). Nach der letzten Fmoc-Abspaltung wurde das Peptid von der festen Phase nach dem in 9.9.2 beschriebenen Protokoll abgespalten und isoliert.

Ausbeute: 3.5 mg (2.66 μmol , 48%) – 85% Reinheit nach HPLC-Auswertung

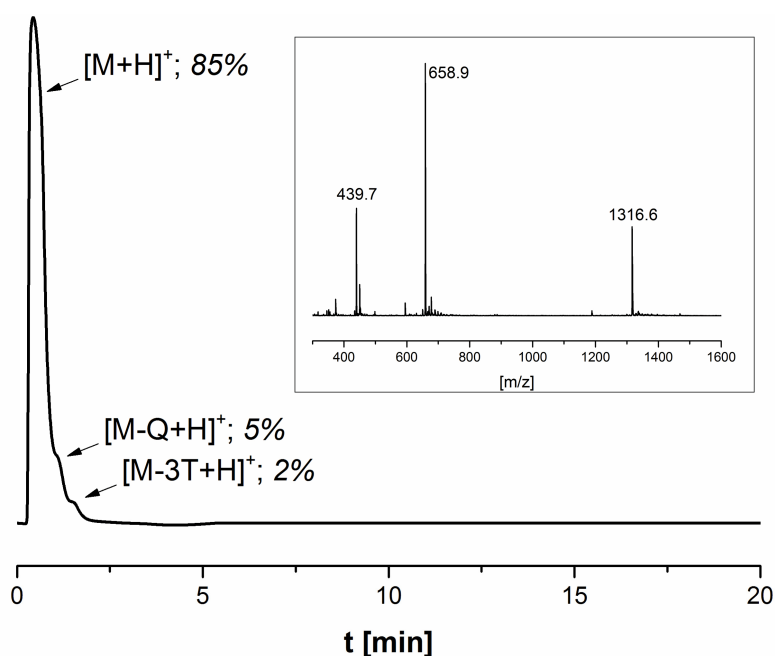


Abbildung 9.13. HPLC-Spur des an $Fe_3O_4@SiO_2@NH_2$ -Nanopartikeln synthetisierten Peptids $H_2N\text{-Gln-Thr-Thr-Thr-Trp-Gln-Asp-Pro-Arg-Lys-Gly-CONH}_2$ ($M = 1315.66$ g/mol) mit eingefügtem ESI-MS des Hauptprodukt-Peaks. (Gradient: 0-30 % Acetonitril, RP-C18-Säule, $\lambda = 220$ nm).

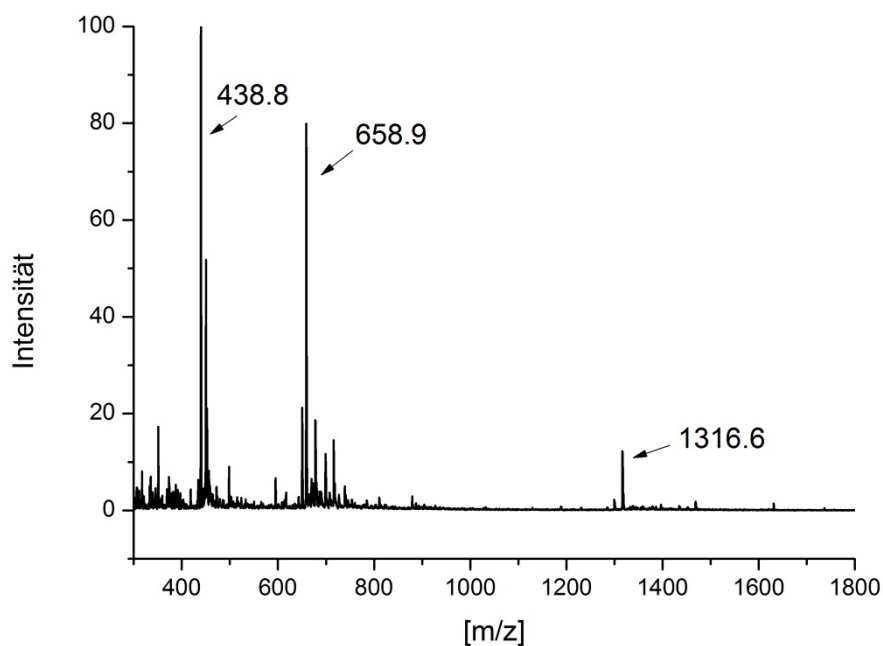


Abbildung 9.14. ESI-MS-Spektrum des synthetisierten Peptids H_2N -Gln-Thr-Thr-Thr-Trp-Gln-Asp-Pro-Arg-Lys-Gly- $CONH_2$; $M_{Th} = 1315.66$ g/mol.

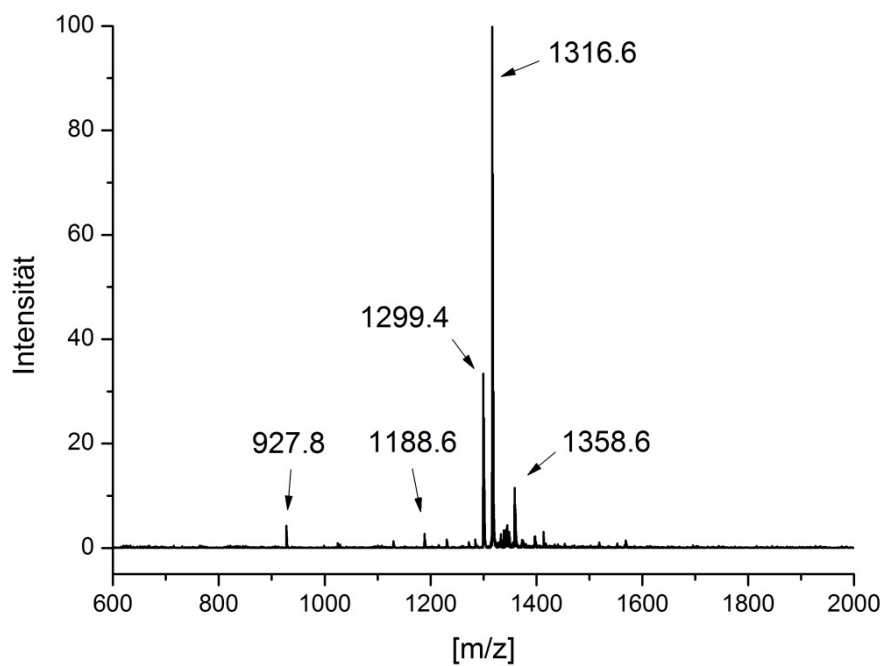


Abbildung 9.15. MALDI-TOF-MS des synthetisierten Peptids H_2N -Gln-Thr-Thr-Thr-Trp-Gln-Asp-Pro-Arg-Lys-Gly- $CONH_2$; $M_{Th} = 1315.66$ g/mol.

9.11 Peptid-Polymer-Konjugat-Synthese an Standard-Rink-Amid-PS-Harz

9.11.1 Synthese von H₂N-Tyr-Lys-Tyr-Lys-Gly-CONH₂

Zur Synthese des Peptids wurden kommerziell erhältliche Fmoc-Aminosäuren via Standardprotokoll 9.9.1 an die feste Phase in einem Reaktor gekuppelt. Die Peptidsynthese wurde in NMP an einem Standard-Rink-Amid-PS-Harz durchgeführt mit einer Ansatzgröße von 0.1 mmol. Das Harz mit gebundenem Peptid wurde für die Konjugat-Synthese weiterverwendet.

9.11.2 Synthese von MeO-PEG₂₀₀₀-Tyr-Lys-Tyr-Lys-Gly-CONH₂

Das mit der vorher synthetisierten Peptidsequenz beladene Rink-amid-PS-Harz wurde in einer Lösung aus 2 mL NMP und 48 µmol (2 eq) α -Methoxy- ω -carboxy-polyethylenglykol mit einer mittleren Molmasse von $M_{n,PEG} = 2000$ Da. Anschließend wurden 128 µmol (8 eq) PyBOP und 256 µmol (16 eq) DIPEA hinzugefügt und die Reaktionslösung für fünf Tage geschüttelt. Das Harz wurde NMP und DCM gewaschen und des PEG-Peptid-Konjugats von der festen Phase mit einer Lösung aus TFA/DCM (50:50) zweimal für jeweils eine Stunde abgespalten. Anschließend erfolgte die Isolierung des Rohprodukts durch Ausfällen aus kaltem Diethylether und nachfolgender Abtrennung durch Zentrifugation. Zur Reinigung wurde der Rückstand zweimal in 200 µl TFA gelöst, erneut aus kaltem Diethylether ausgefällt und anschließend lyophilisiert.

Ausbeute ($M_{n,PEG} = 2000$ Da): 67.8 mg (25.42 µmol)

Kupplungseffizienz (NMR): 6%

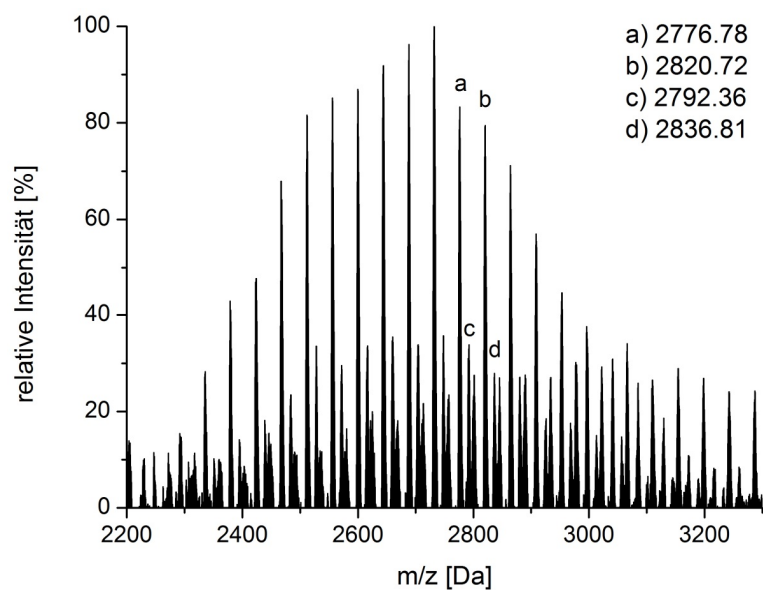


Abbildung 9.16. Maldi-TOF-MS von MeO-PEG₂₀₀₀-Tyr-Lys-Tyr-Lys-Gly-CONH₂, synthetisiert an Rink-amid-PS-Harz.

$M_{\text{Peak (a)}} = m/z \ 2776.78$ zugeordnet zu $[M+Na]^+$ $M_{\text{calc}}[M+Na]^+ = 2776.60 \text{ Da}$

$M_{\text{Peak (c)}} = m/z \ 2792.36$ zugeordnet zu $[M+K]^+$ $M_{\text{calc}}[M+K]^+ = 2792.57 \text{ Da}$

$\Delta m \sim 44 \text{ Da}$ (EO Wiederholungseinheit).

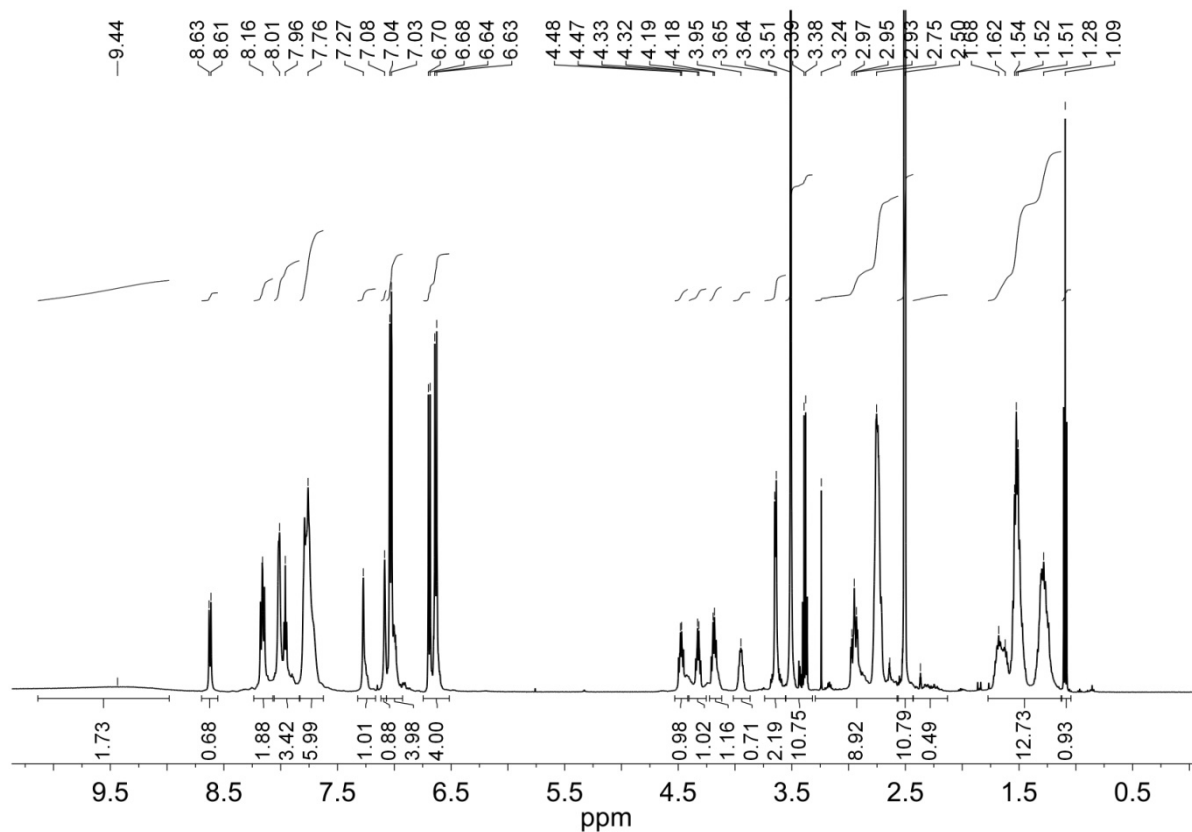


Abbildung 9.17. ¹H-NMR-Spektrum von MeO-PEG₂₀₀₀-Tyr-Lys-Tyr-Lys-Gly-CONH₂, synthetisiert an Rink-amid-PS-Harz.

¹H-NMR: (500 MHz, DMSO-d₆, δ in ppm): 10.14-8.98 (m, 2H, OH Tyr₁, OH Tyr₂), 8.70-8.55 (m, 1H, CONH Tyr₂), 8.24-8.07 (m, 2, CONH Gly, CONH Tyr₁), 8.06-7.84 (m, 3H, CONH Lys₁, CONH Lys₂, CONH PEO-Derivat), 7.83-7.62 (m, 6H, CONH₂ acid amide, NH₂ Lys₁, NH₂ Lys₂), 7.07-6.93 (m, 4H, 2xCH^{Ar} Tyr₁, 2xCH^{Ar} Tyr₂), 6.75-6.52 (m, 4H, 2xCH^{Ar} Tyr₁, 2xCH^{Ar} Tyr₂), 4.53-4.42 (m, 1H, C^αH Tyr₁), 4.41-4.25 (m, 1H, C^αH Tyr₂), 4.23-4.12 (m, 1H, C^αH Lys₂), 4.02-3.87 (m, 1H, C^αH Lys₁), 3.74-3.55 (m, 3H, CH₃), 3.56-3.32 (m, 11H, CH₂ PEO), 3.29-2.56/2.43-2.13 (m, 10 H, CH₂ Gly, C^βH₂ Tyr₁, C^βH₂ Tyr₂, C^εH₂ Lys₁, C^εH₂ Lys₂), 1.77-1.13 (m, 12H, 6x C^βH₂ Lys₁, C^βH₂ Lys₂, C^δH₂ Lys₁, C^δH₂ Lys₂, C^γH₂ Lys₁, C^γH₂ Lys₂). Das Verhältnis von PEO zu Peptid wurde durch den Vergleich der Integralintensitäten von 8H von CH^{Ar} Tyr₁₊₂ bei 7.07-6.52 ppm und 11H von PEO bei 3.56-3.32 ppm ermittelt. Dabei wurde eine Kupplungseffizienz von 6% berechnet.

9.11.3 Synthese von MeO-PEG₅₀₀₀-Tyr-Lys-Tyr-Lys-Gly-CONH₂

Das mit der vorher synthetisierten Peptidsequenz beladene Rink-amid-PS-Harz wurde in einer Lösung aus 2 mL NMP und 48 μmol (2 eq) α-Methoxy-ω-carboxy-polyethylenglykol mit einer mittleren Molmasse von M_{n,PEG} = 5000 Da. Anschließend wurden 128 μmol (8 eq) PyBOP und 256 μmol (16 eq) DIPEA hinzugefügt und die Reaktionslösung für fünf Tage geschüttelt. Das Harz wurde NMP und DCM gewaschen und des PEG-Peptid-Konjugats von der festen Phase mit einer Lösung aus TFA/DCM (50:50) zweimal für jeweils eine Stunde abgespalten. Anschließend erfolgte die Isolierung des Rohprodukts durch Ausfällen aus kaltem Diethylether und nachfolgender Abtrennung durch Zentrifugation. Zur Reinigung wurde der Rückstand zweimal in 200 μl TFA gelöst, erneut aus kaltem Diethylether ausgefällt und anschließend lyophilisiert.

Ausbeute (M_{n,PEG} = 5000 Da): 48.5 mg (8.57 μmol)

Kupplungseffizienz (NMR): 8%

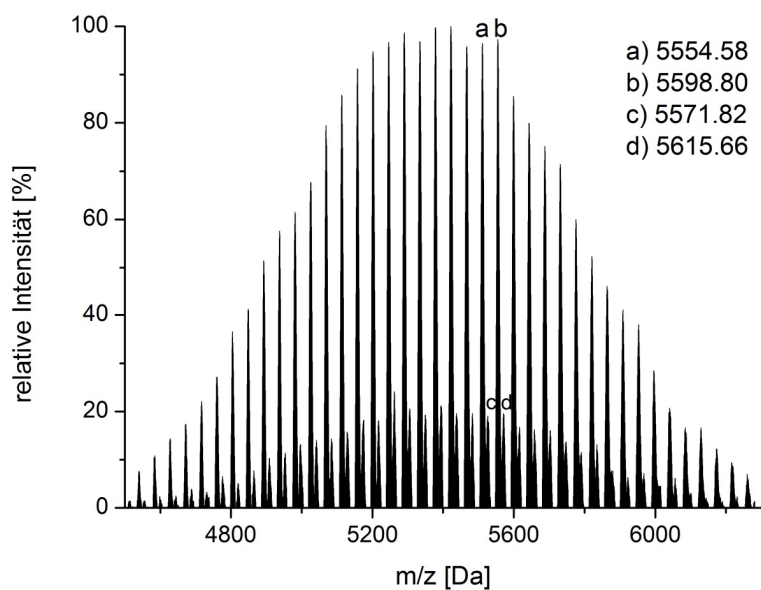


Abbildung 9.18. Maldi-TOF-MS von MeO-PEG₅₀₀₀-Tyr-Lys-Tyr-Lys-Gly-CONH₂, synthetisiert an Rink-amid-PS-Harz.

$M_{\text{peak (a)}} = m/z \text{ 5554.58}$ zugeordnet zu $[M+Na]^+$ $M_{\text{calc}}[M+Na]^+ = 5552.16 \text{ Da}$

$M_{\text{peak (c)}} = m/z \text{ 5571.82}$ zugeordnet zu $[M+K]^+$ $M_{\text{calc}}[M+K]^+ = 5568.13 \text{ Da}$

$\Delta m \sim 44 \text{ Da}$ (EO Wiederholungseinheit).

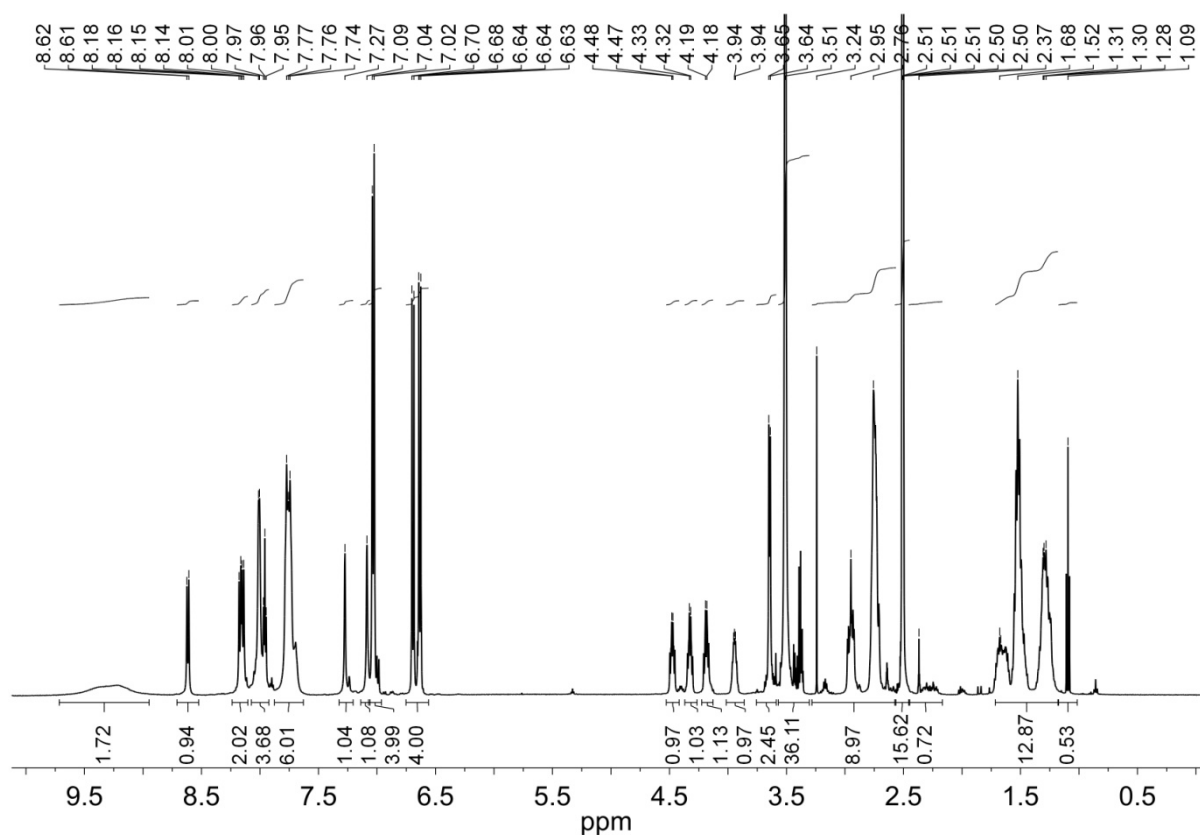


Abbildung 9.19. ¹H-NMR-Spektrum von MeO-PEG₅₀₀₀-Tyr-Lys-Tyr-Lys-Gly-CONH₂, synthetisiert an Rink-amid-PS-Harz.

¹H-NMR: (500 MHz, DMSO-d₆, δ in ppm): 9.72-8.95 (m, 2H, OH Tyr₁, OH Tyr₂), 8.71-8.52 (m, 1H, CONH Tyr₂), 8.24-8.10 (m, 2, CONH Gly, CONH Tyr₁), 8.07-7.92 (m, 3H, CONH Lys₁, CONH Lys₂, CONH PEO-Derivat), 7.88-7.63 (m, 6H, CONH₂ acid amide, NH₂ Lys₁, NH₂ Lys₂), 7.07-6.69 (m, 4H, 2xCH^{Ar} Tyr₁, 2xCH^{Ar} Tyr₂), 6.75-6.56 (m, 4H, 2xCH^{Ar} Tyr₁, 2xCH^{Ar} Tyr₂), 4.53-4.42 (m, 1H, C^αH Tyr₁), 4.37-4.26(m, 1H, C^αH Tyr₂), 4.22-4.13 (m, 1H, C^αH Lys₂), 4.02-3.86 (m, 1H, C^αH Lys₁), 3.76-3.59 (m, 3H, CH₃), 3.57-3.31 (m, 36H, CH₂ PEO), 3.28-2.57/2.46-2.17 (m, 10 H, CH₂ Gly, C^βH₂ Tyr₁, C^βH₂ Tyr₂, C^εH₂ Lys₁, C^εH₂ Lys₂), 1.72-1.18 (m, 12H, 6x C^βH₂ Lys₁, C^βH₂ Lys₂, C^δH₂ Lys₁, C^δH₂ Lys₂, C^γH₂ Lys₁, C^γH₂ Lys₂). Das Verhältnis von PEO zu Peptid wurde durch den Vergleich der Integralintensitäten von 8H von CH^{Ar} Tyr₁₊₂ bei 7.07-6.56 ppm und 36H von PEO bei 3.57-3.31 ppm ermittelt. Dabei wurde eine Kupplungseffizienz von 8% berechnet.

9.12 Peptid-Polymer-Konjugat-Synthese an $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{SiO}_2@\text{NH}_2$ -Nanopartikeln

9.12.1 Synthese von $\text{H}_2\text{N-Tyr-Lys-Tyr-Lys-Gly-CONH}_2$ (14)

Zur Synthese des Peptids wurden kommerziell erhältliche Fmoc-Aminosäuren via Standardprotokoll 9.9.2 an die feste Phase in einem Erlenmeyerkolben gekuppelt. Die Peptidsynthese wurde in NMP an 50 mg $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{SiO}_2@\text{NH}-(\text{Lys})_2$ -Rink-Linker-Nanopartikeln durchgeführt bei einer Ansatzgröße von 5.0 μmol . Zur Trennung der festen Phase von der flüssigen wurde ein externes Magnetfeld eingesetzt (Sedimentationszeit: 3 min). Nach der letzten Fmoc-Abspaltung wurde ein kleiner Teil des Peptids von der festen Phase nach dem in 9.9.2 beschriebenen Protokoll abgespalten und isoliert. Die restlichen Partikel mit gebundenem Peptid wurden für die Konjugat-Synthese weiterverwendet.

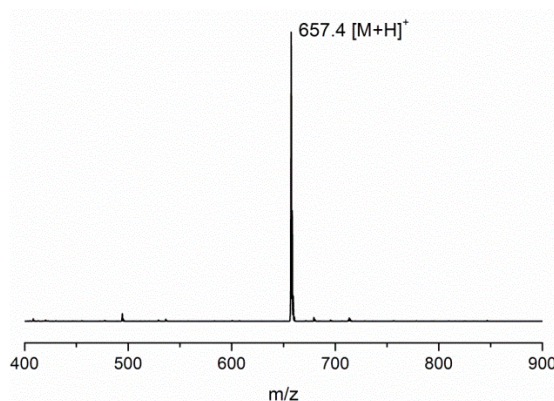


Abbildung 9.20. ESI-MS der an $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{SiO}_2@\text{NH}-(\text{Lys})_2$ -Rink-Linker-Partikeln synthetisierten Peptidsequenz $\text{H}_2\text{N-Tyr-Lys-Tyr-Lys-Gly-CONH}_2$ ($M_{\text{Th}} = 657.37 \text{ g/mol}$).

9.12.2 Synthese von $\text{MeO-PEG}_{2000}\text{-Tyr-Lys-Tyr-Lys-Gly-CONH}_2$ (15)

Die mit der vorher synthetisierten Peptidsequenz beladenen $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{SiO}_2@\text{NH}-(\text{Lys})_2$ -Rink-Linker-Partikel wurden in einer Lösung aus 10 mL NMP und 48 μmol (2 eq) α -Methoxy- ω -carboxy-polyethylenglykol mit einer mittleren Molmasse von $M_{n,\text{PEG}} = 2000 \text{ Da}$. Anschließend wurden 128 μmol (8 eq) PyBOP und 256 μmol (16 eq) DIPEA hinzugefügt und die Reaktionslösung für fünf Tage geschüttelt. Nach magnetischer Sedimentation der Kolloide wurden dieselben mit NMP und DCM gewaschen und das PEG-Peptid-Konjugat von der festen Phase mit einer Lösung aus TFA/DCM (50:50) zweimal für jeweils drei Stunden abgespalten. Anschließend erfolgte die Isolierung des Rohprodukts durch Ausfällen aus kaltem Diethylether und nachfolgender Abtrennung durch Zentrifugation.

Zur Reinigung wurde der Rückstand zweimal in 200 µl TFA gelöst, erneut aus kaltem Diethylether ausgefällt und anschließend lyophilisiert.

Ausbeute ($M_{n,PEG} = 2000$ Da): 10.3 mg (3.86 µmol)

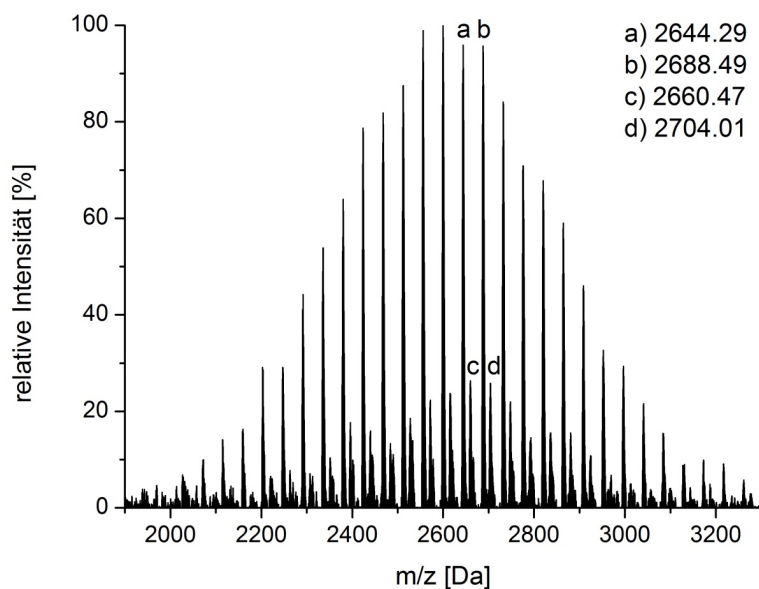


Abbildung 9.21. Maldi-TOF-MS von MeO-PEG_{M=2000}-Tyr-Lys-Tyr-Lys-Gly-CONH₂, synthetisiert an superparamagnetischen Kern-Schale-Nanopartikeln.

$M_{\text{Peak (b)}} = m/z \text{ 2688.49}$ zugeordnet zu $[M+Na]^+$

$M_{\text{calc}}[M+Na]^+ = 2688.54$ Da

$M_{\text{Peak (c)}} = m/z \text{ 2660.47}$ zugeordnet zu $[M+K]^+$

$M_{\text{calc}}[M+K]^+ = 2660.51$ Da

$\Delta m \sim 44$ Da (EO Wiederholungseinheit).

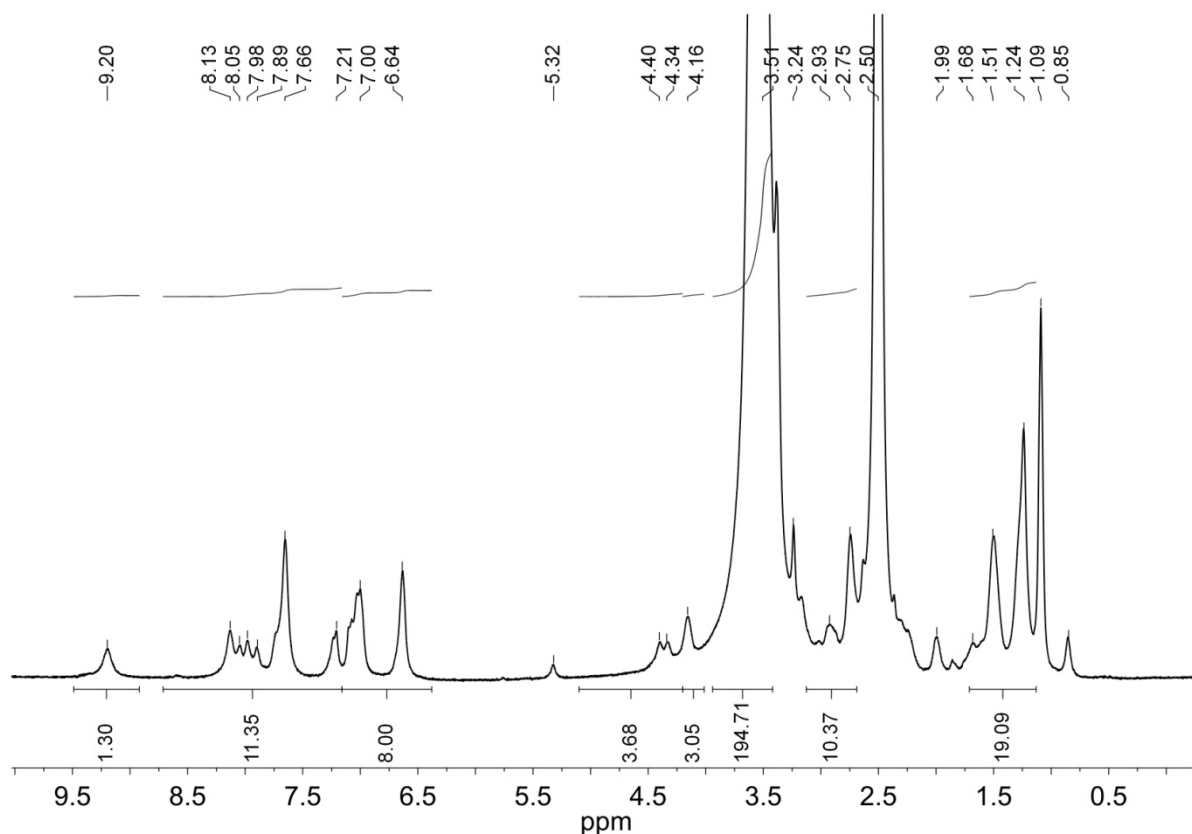


Abbildung 9.22. ^1H -NMR-Spektrum von $\text{MeO-PEG}_{M=2000}\text{-Tyr-Lys-Tyr-Lys-Gly-CONH}_2$, synthetisiert an superparamagnetischen Kern-Schale-Nanopartikeln.

$^1\text{H-NMR}$: (500 MHz, DMSO-d_6 , δ in ppm): 9.49-8.92 (m, 2H, OH Tyr₁, OH Tyr₂), 8.71-7.16 (m, 12H, CONH Tyr₂, CONH Gly, CONH Tyr₁, CONH Lys₁, CONH Lys₂, CONH PEG-Derivat, CONH₂ Säureamid, NH₂ Lys₁, NH₂ Lys₂), 7.16-6.38 (m, 8H, 4xCH^{Ar} Tyr₁, 4xCH^{Ar} Tyr₂), 5.10-4.20 (m, 4H, C ^{α} H Tyr₁, C ^{α} H Tyr₂, C ^{α} H Lys₂, C ^{α} H Lys₁), 4.20-4.01 (m, 3H, CH₃), 3.94-3.42 (m, 195H, CH₂ PEO), 3.13-2.69 (m, 10 H, CH₂ Gly, C ^{β} H₂ Tyr₁, C ^{β} H₂ Tyr₂, C ^{ϵ} H₂ Lys₁, C ^{ϵ} H₂ Lys₂), 1.71-1.13 (m, 12H, 6x C ^{β} H₂ Lys₁, C ^{β} H₂ Lys₂, C ^{δ} H₂ Lys₁, C ^{δ} H₂ Lys₂, C ^{γ} H₂ Lys₁, C ^{γ} H₂ Lys₂). Das Verhältnis von PEO zu Peptid wurde durch den Vergleich der Integralintensitäten von 8H von CH^{Ar} Tyr₁₊₂ bei 7.16-6.38 ppm und 195H von PEO bei 3.94-3.42 ppm ermittelt. Dabei wurde eine quantitative Kupplungseffizienz bestimmt.

9.12.3 Synthese von MeO-PEG₅₀₀₀-Tyr-Lys-Tyr-Lys-Gly-CONH₂ (16)

Die mit der vorher synthetisierten Peptidsequenz beladenen Fe₃O₄@SiO₂@NH@(Lys)₂@Rink-Linker-Partikel wurden in einer Lösung aus 10 mL NMP und 48 µmol (2 eq) α -Methoxy- ω -carboxy-polyethylenglykol mit einer mittleren Molmasse von $M_{n,PEG} = 5000$ Da. Anschließend wurden 128 µmol (8 eq) PyBOP und 256 µmol (16 eq) DIPEA hinzugefügt und die Reaktionslösung für fünf Tage geschüttelt. Nach magnetischer Sedimentation der Kolloide wurden dieselben mit NMP und DCM gewaschen und das PEG-Peptid-Konjugat von der festen Phase mit einer Lösung aus TFA/DCM (50:50) zweimal für jeweils drei Stunden abgespalten. Anschließend erfolgte die Isolierung des Rohprodukts durch Ausfällen aus kaltem Diethylether und nachfolgender Abtrennung durch Zentrifugation. Zur Reinigung wurde der Rückstand zweimal in 200 µl TFA gelöst, erneut aus kaltem Diethylether ausgefällt und anschließend lyophilisiert.

Ausbeute ($M_{n,PEG} = 5000$ Da): 10.6 mg (1.87 µmol)

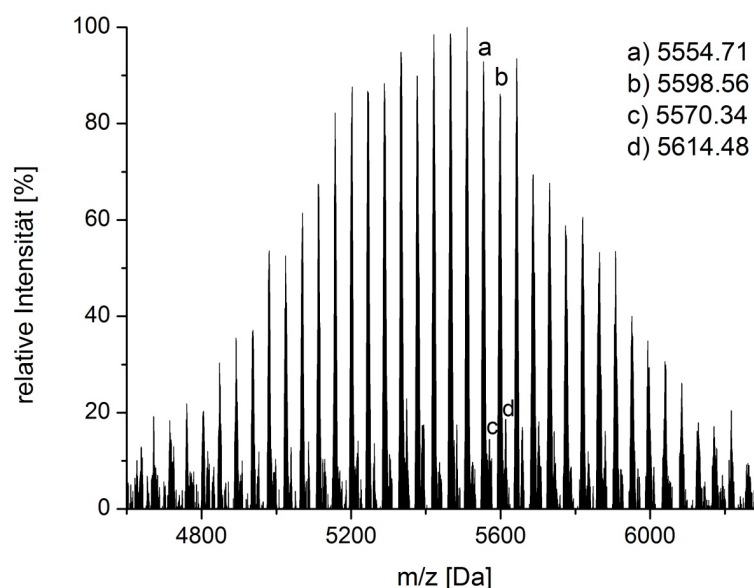


Abbildung 9.23. Maldi-TOF-MS von MeO-PEG_{M=5000}-Tyr-Lys-Tyr-Lys-Gly-CONH₂, synthetisiert an superparamagnetischen Kern-Schale-Nanopartikeln.

$$M_{\text{Peak (a)}} = m/z \ 5554.71 \text{ zugeordnet zu } [M+\text{Na}]^+$$

$$M_{\text{calc}}[M+\text{Na}]^+ = 5552.16 \text{ Da}$$

$$M_{\text{Peak (c)}} = m/z \ 5570.34 \text{ zugeordnet zu } [M+\text{K}]^+$$

$$M_{\text{calc}}[M+\text{K}]^+ = 5568.13 \text{ Da}$$

$$\Delta m \sim 44 \text{ Da (EO Wiederholungseinheit).}$$

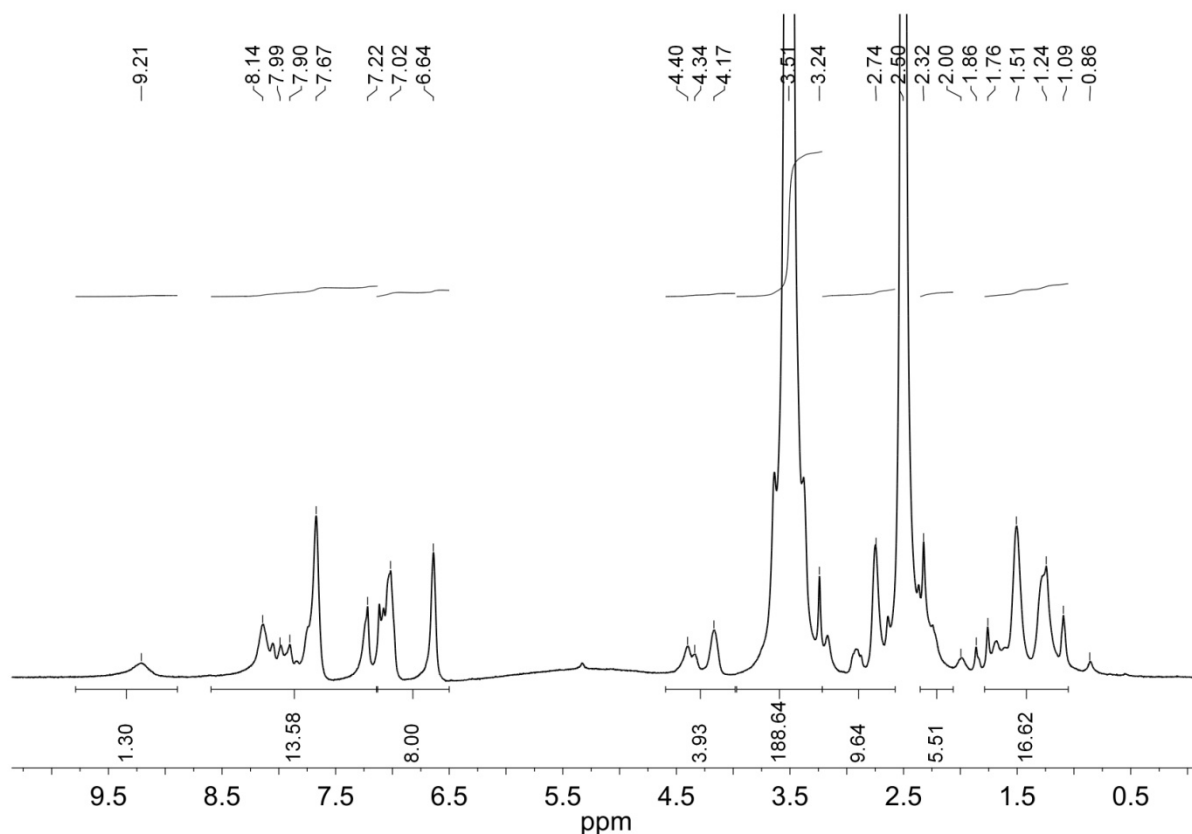


Abbildung 9.24. ^1H -NMR-Spektrum von $\text{MeO-PEG}_{M=2000}\text{-Tyr-Lys-Tyr-Lys-Gly-CONH}_2$, synthetisiert an superparamagnetischen Kern-Schale-Nanopartikeln.

^1H -NMR: (500 MHz, DMSO-d_6 , δ in ppm): 9.79-8.89 (m, 2H, OH Tyr₁, OH Tyr₂), 8.60-7.14 (m, 12H, CONH Tyr₂, CONH Gly, CONH Tyr₁, CONH Lys₁, CONH Lys₂, CONH PEG-Derivat, CONH₂ Säureamid, NH₂ Lys₁, NH₂ Lys₂), 7.14-6.50 (m, 8H, 4xCH^{Ar} Tyr₁, 4xCH^{Ar} Tyr₂), 4.60-3.98 (m, 4H, C ^{α} H Tyr₁, C ^{α} H Tyr₂, C ^{α} H Lys₂, C ^{α} H Lys₁), 3.97-3.22 (m, 189H, CH₂ PEO), 3.22-2.57 (m, 10 H, CH₂ Gly, C ^{β} H₂ Tyr₁, C ^{β} H₂ Tyr₂, C ^{ϵ} H₂ Lys₁, C ^{ϵ} H₂ Lys₂), 1.79-1.05 (m, 12H, 6x C ^{β} H₂ Lys₁, C ^{β} H₂ Lys₂, C ^{δ} H₂ Lys₁, C ^{δ} H₂ Lys₂, C ^{γ} H₂ Lys₁, C ^{γ} H₂ Lys₂). Das Verhältnis von PEO zu Peptid wurde durch den Vergleich der Integralintensitäten von 8H von CH^{Ar} Tyr₁₊₂ bei 7.14-6.50 ppm und 189H von PEO bei 3.97-3.22 ppm ermittelt. Dabei wurde eine Kupplungseffizienz von 42% berechnet.

9.13 Peptidsynthese an MagSilica@NH₂-Nanopartikeln

9.13.1 Synthese von H₂N-Phe-Lys-Leu-Gly-CONH₂ an MagSilica@NH-Rink-Linker-Nanopartikeln (17)

Zur Synthese des Peptids wurden kommerziell erhältliche Fmoc-Aminosäuren via Standardprotokoll 9.9.2 an die feste Phase in einem Erlenmeyerkolben gekuppelt. Die Peptidsynthese wurde in NMP an 98 mg MagSilica@NH-Rink-Linker-Nanopartikeln durchgeführt bei einer Ansatzgröße von 9.8 µmol. Zur Trennung der festen Phase von der flüssigen wurde ein externes Magnetfeld eingesetzt (Sedimentationszeit: 5 min). Nach der letzten Fmoc-Abspaltung wurde das Peptid von der festen Phase nach dem in 9.9.2 beschriebenen Protokoll abgespalten und isoliert.

Ausbeute: 4.0 mg (8.0 µmol, 82%) – 95% Reinheit nach UPLC-Auswertung

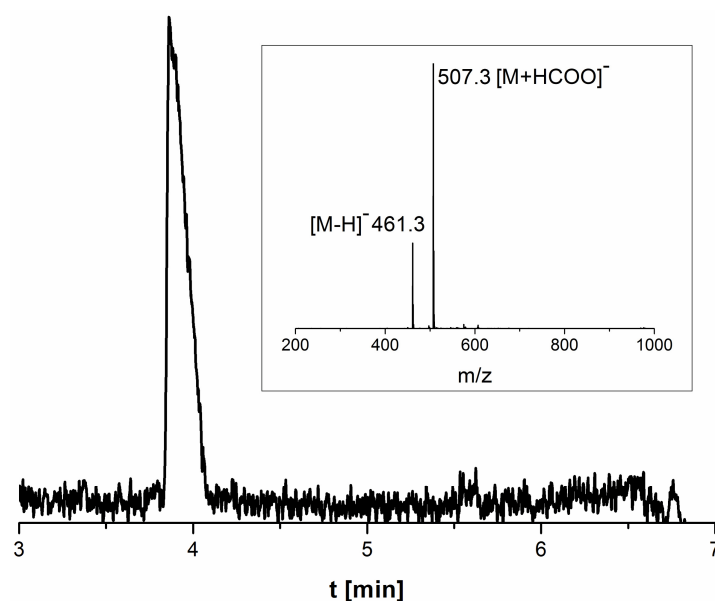


Abbildung 9.25. UPLC-Spur des an MagSilica@NH₂-Nanopartikeln synthetisierten Peptids H₂N-Phe-Lys-Leu-Gly-CONH₂ (M = 462.30 g/mol) mit eingefügtem ESI-MS-Spektrum des Hauptprodukt-Peaks (Gradient: 0-20 % Acetonitril, RP-C18-Säule, λ=220 nm).

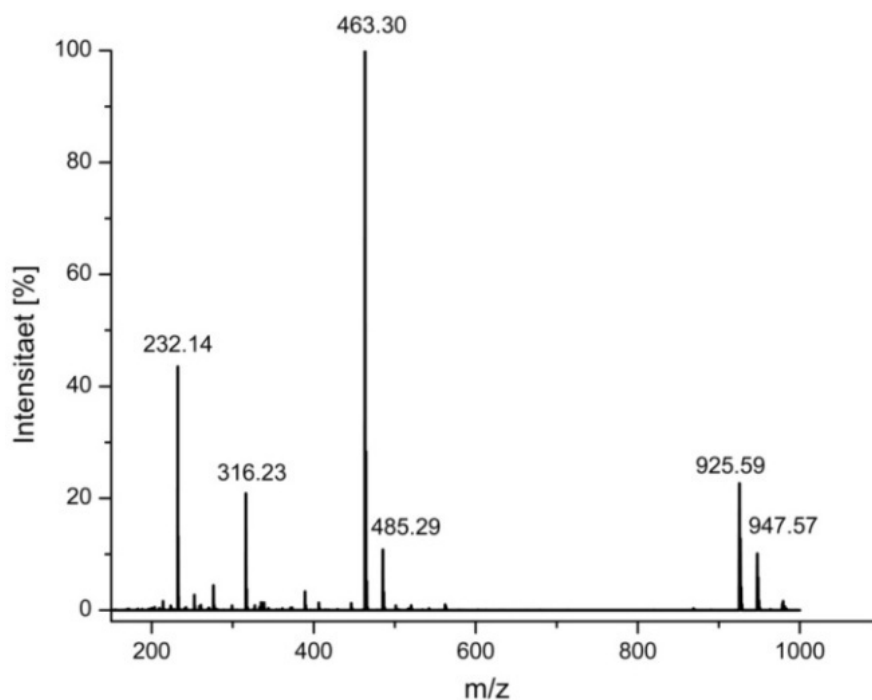


Abbildung 9.26. ESI-MS-Spektrum des synthetisierten Peptids H_2N -Phe-Lys-Leu-Gly- $CONH_2$. m/z (%): $M_{Th} = 462.30$ g/mol: 232.1412 (44) ($[M+2H]^{2+}$), 316.23 (21) ($[M-Phe+H]^+$), 463.30 (100) ($[M+H]^+$), 485.29 (11) ($[M+Na]^+$), 925.59 (23) ($[2M+H]^+$), 947.57 (10) ($[2M+Na]^+$).

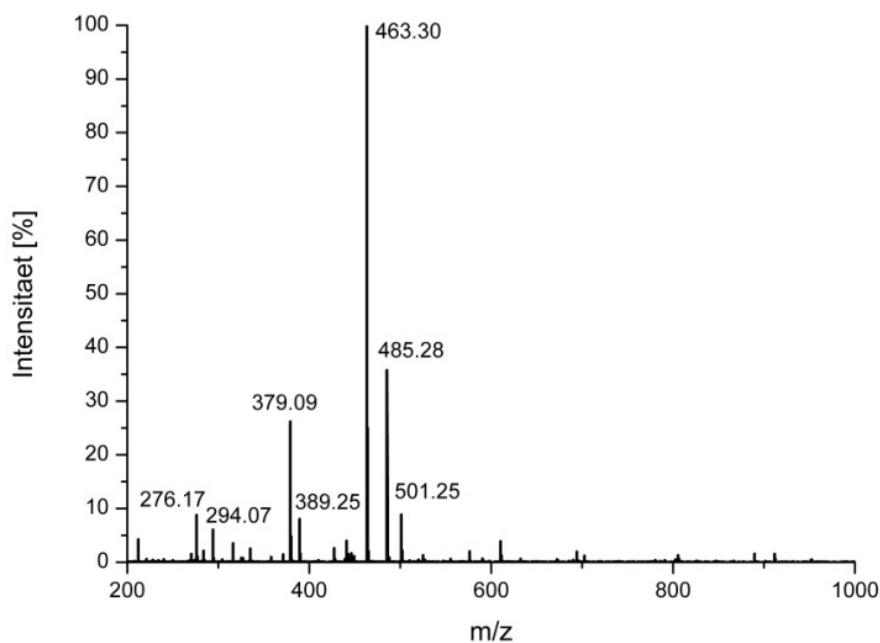


Abbildung 9.27. MALDI-TOF-MS des synthetisierten Peptids H_2N -Gly-Thr-Phe-Lys-Gly- $CONH_2$. m/z (%): $M_{Th} = 462.30$ g/mol: 276.17(9) ($[M+2Na]^{2+}$), 294.07 (6) ($[M+Na+K]^{2+}$), 379.09 (26) ($[M+Ac+Na]^+$), 463.30 (100) ($[M+H]^+$), 485.28 (36) ($[M+Na]^+$), 501.25 (9) ($[M+K]^+$).

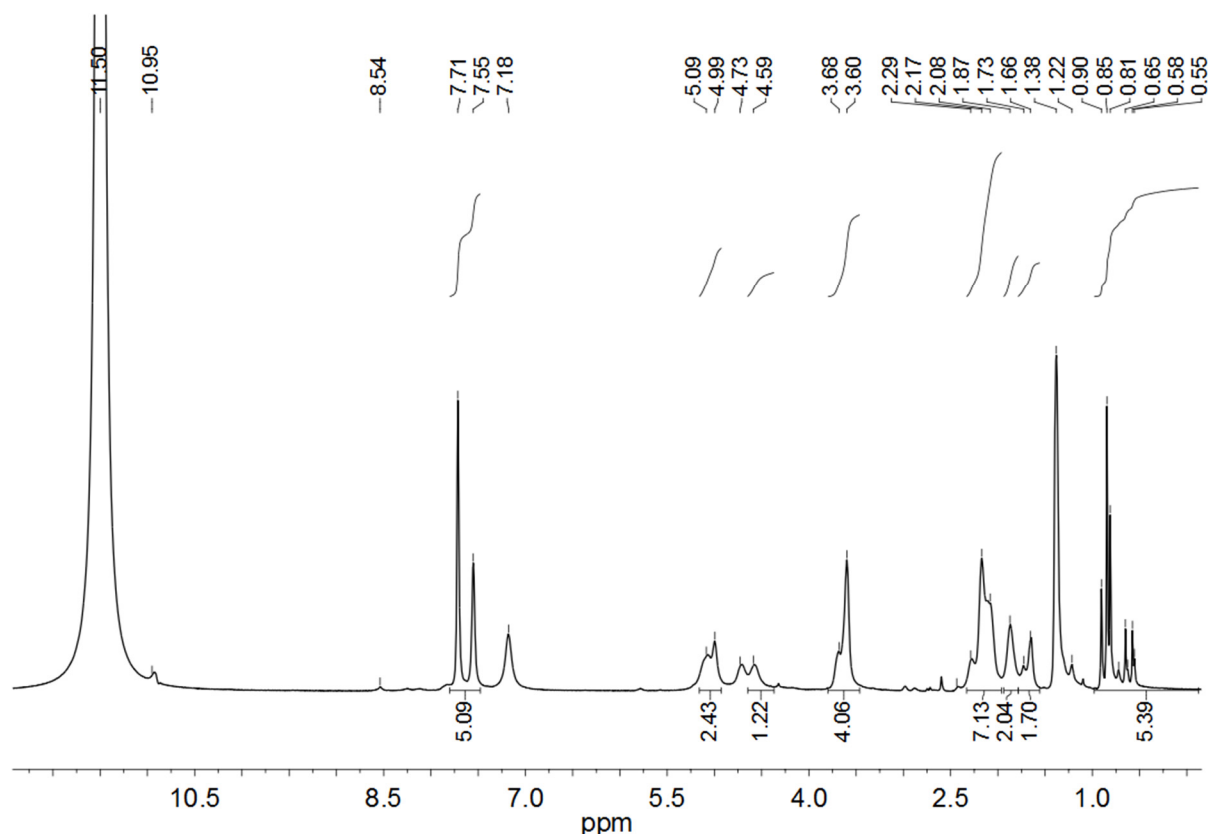


Abbildung 9.28. ^1H -NMR-Spektrum des synthetisierten Peptids $\text{H}_2\text{N-Phe-Lys-Leu-Gly-CONH}_2$.

$^1\text{H NMR}$: (500 MHz, TFA-d, δ in ppm) 7.73-7.55 (m, 5H, CH^{Ar} Phe), 5.09-4.99 (m, 2H, CH^{α} Lys, CH^{α} Leu), 4.59 (s, 1H, CH^{α} Phe), 3.68-3.60 (m, 4H, CH_2^{α} Gly, CH_2^{β} Phe), 2.29-2.17 (m, 7H, CH_2^{β} Lys, CH_2^{ϵ} Lys, CH^{γ} Leu, CH_2^{β} Leu), 1.86 (s, 2H, CH_2^{δ} Lys), 1.73-1.66 (m, 2H, CH_2^{γ} Lys), 0.90-0.55 (m, 6H, 2CH_3^{δ} Leu).

9.13.2 Synthese von $\text{H}_2\text{N-Phe-Lys-Leu-Gly-CONH}_2$ an MagSilica@NH-IPDI-PEI₂₅₀₀₀-Rink-Linker-Nanopartikeln (**18**)

Zur Synthese des Peptids wurden kommerziell erhältliche Fmoc-Aminosäuren via Standardprotokoll 9.9.2 an die feste Phase in einem Erlenmeyerkolben gekuppelt. Die Peptidsynthese wurde in NMP an 230 mg MagSilica@NH-IPDI-PEI₂₅₀₀₀-Rink-Linker-Nanopartikeln durchgeführt bei einer Ansatzgröße von 74 μmol . Zur Trennung der festen Phase von der flüssigen wurde ein externes Magnetfeld eingesetzt (Sedimentationszeit: 5 min). Nach der letzten Fmoc-Abspaltung wurde das Peptid von der festen Phase nach dem in 9.9.2 beschriebenen Protokoll abgespalten und isoliert.

Ausbeute: 28 mg (60.6 μmol , Ausbeute 82%) – 97.7% Reinheit nach HPLC-Auswertung

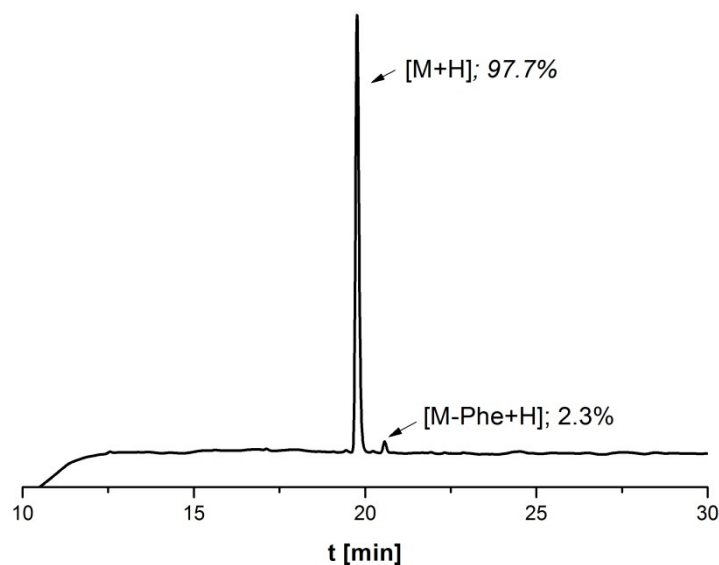


Abbildung 9.29. HPLC-Spur des an MagSilica@NH-IPDI-PEI₂₅₀₀₀-Nanopartikeln synthetisierten Peptids H_2N -Phe-Lys-Leu-Gly-CONH₂ ($M = 462.30$ g/mol). (Gradient: 3-60 % Acetonitril, RP-C18 - Säule, $\lambda=220$ nm). Zielpeptid mit 97 % Reinheit.

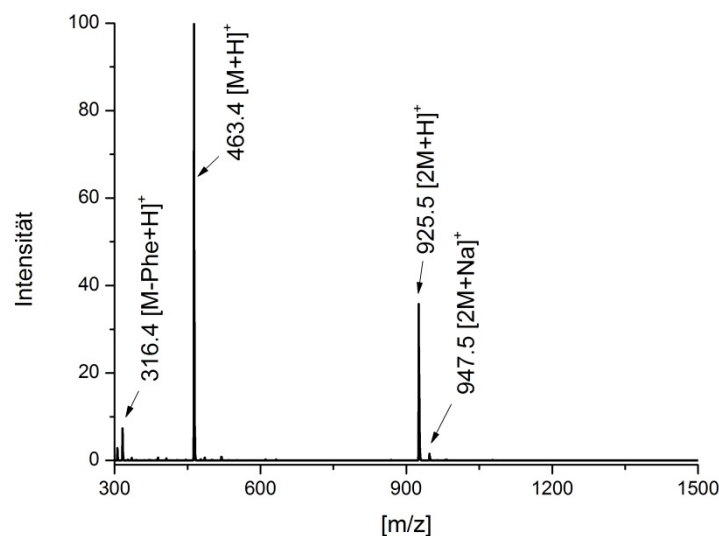


Abbildung 9.30. ESI-MS-Spektrum des an MagSilica@NH₂-IPDI-PEI₂₅₀₀₀-Nanopartikeln synthetisierten Peptids H_2N -Phe-Lys-Leu-Gly-CONH₂. m/z (%): $M_{Th} = 462.29$ g/mol: 316.4 (7) ([M-Phe+H]⁺); 463.4 (100) ([M+H]⁺); 925.5 (36) ([2M+H]⁺); 947.5 (2) ([2M+Na]⁺).

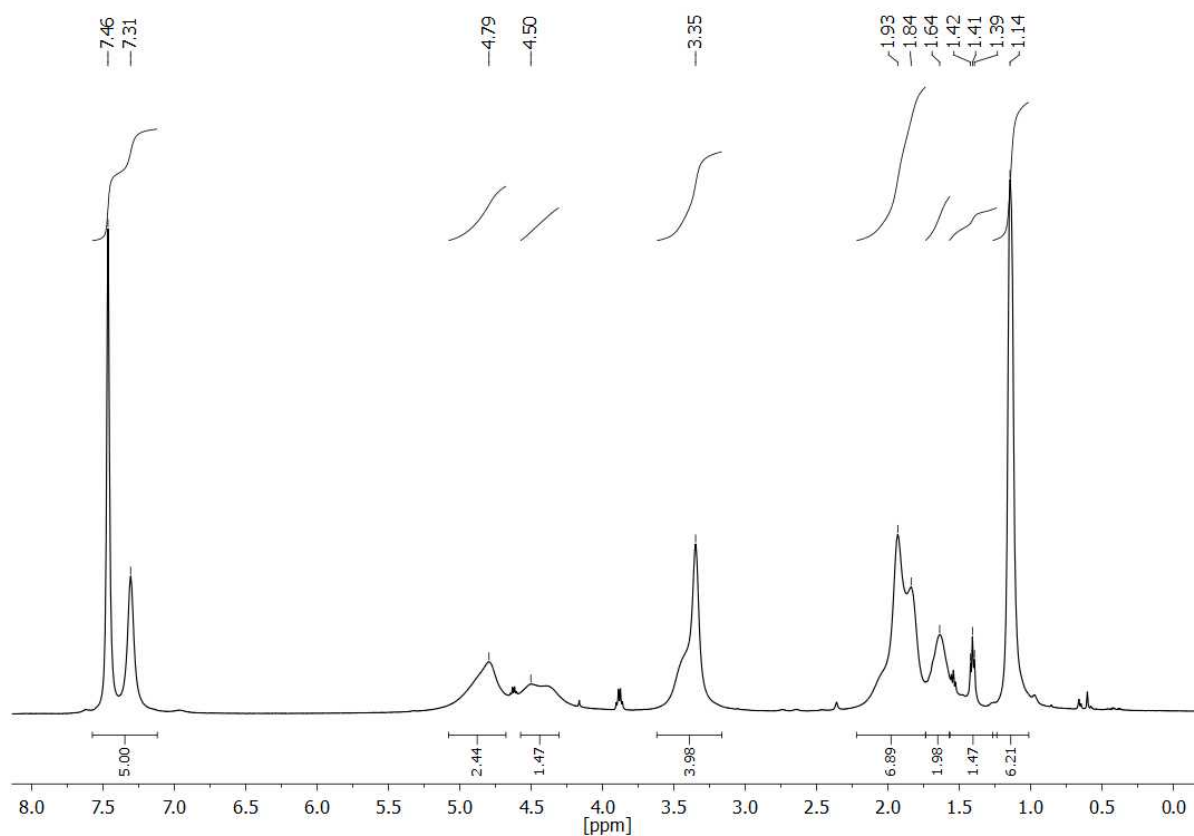


Abbildung 9.31. ^1H -NMR-Spektrum des synthetisierten Peptids $\text{H}_2\text{N-Phe-Lys-Leu-Gly-CONH}_2$.

$^1\text{H NMR}$: (500 MHz, TFA-d, δ in ppm) 7.46-7.31 (m, 5H, CH_{Ar} Phe), 4.79 (m, 2H, C^αH Leu, C^αH Lys), 4.50 (m, 1H, C^αH Phe), 3.35 (m, 4H, $\text{C}^\alpha\text{H}_2$ Gly, C^βH_2 Phe), 1.93-1.84 (m, 7H, C^βH_2 Leu, C^γH Leu, C^βH_2 Lys, $\text{C}^\epsilon\text{H}_2$ Lys), 1.64 (m, 2H, $\text{C}^\delta\text{H}_2$ Lys), 1.42-1.39 (m, 2H, $\text{C}^\gamma\text{H}_2$ Lys), 1.14 (s, 6H, $\text{C}^{\gamma\gamma}\text{H}_3$ Leu).

9.14 Oligonucleotidsynthese an MagSilica@NH₂-Nanopartikeln

9.14.1 Synthese von A-A-A-O-(CH₂)₂-O-(CH₂)₂-OH (19)

Standardlösungen: I) 3% Trichloressigsäure in Dichlormethan

II) Iod in Wasser/Pyridin/THF (3:2:20:75).

III) DMT-*dA*^{bz} (0.1 M) mit 5-Benzylmercapto-1H-tetrazol (BMT, 0.25 M)
in trockenem Acetonitril

300 mg MagSilica@NH₂-Nanopartikel (Beladung: 0.01 mmol/g; Ansatzgröße: 24 µmol) wurden in einer Lösung von Bernsteinsäureanhydrid (50 mg) in 40 mL Acetonitril dispergiert und über Nacht geschüttelt. Anschließend wurden die Partikel je dreimal mit Acetonitril und DCM gewaschen und in eine Lösung aus 1 mL Diethylenglykol, 500 mg PyBOP und 500 µL DIPEA in 5 mL DMF gegeben. Die Dispersion wurde ebenfalls über Nacht geschüttelt. Nach je dreimaligem Waschen mit DMF und Acetonitril erfolgte mit Standard-Reagenzien die Kupplung des ersten DMT-*d*-Adenosin(bz)-β-Cyanoethyl-phosphoramidit-Adenosin(*dA*^{BZ})-Moleküls nach Aktivierung mit BMT in Acetonitril (Lösung III). Anschließend erfolgte die Oxidation des Phosphittriesters mit einem Gemisch aus I₂ und Pyridin in THF/H₂O zum Phosphotriester (Lösung II). Die Dimethoxytrityl-Schutzgruppe am 5'Ende wurde mit einer Lösung aus 3%iger Trichloressigsäure in DCM (Lösung I) abgespalten und nach dieser Abfolge zwei weitere *dA*^{BZ}-Moleküle gekuppelt. Die Abspaltung des Produkts vom Trägermaterial und dessen Entschützung erfolgte in einer Ammoniak-Lösung (25%) bei 55°C über 3 Stunden. Nach magnetischer Abtrennung der Partikel wurde der Ammoniak unter vermindertem Druck entfernt und das Rohprodukt lyophilisiert.

Ausbeute: 14 mg (13.40 µmol, 56%)

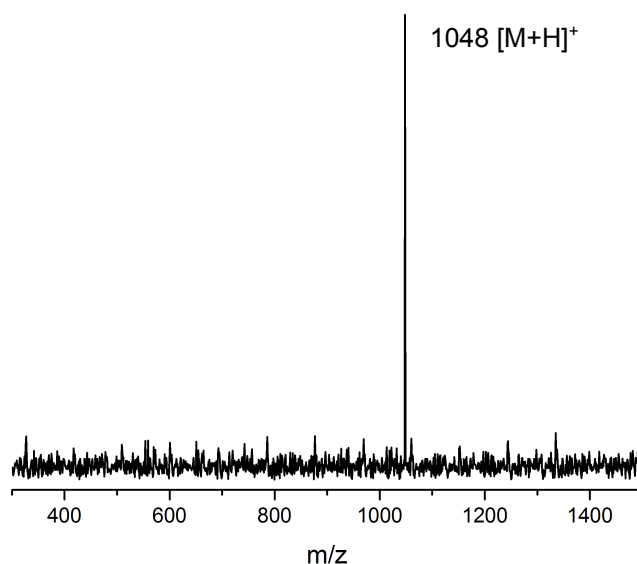


Abbildung 9.32. ESI-MS-Spektrum des an MagSilica@NH₂-Nanopartikeln synthetisierten Trinucleotids A-A-A-O-(CH₂)₂-O-(CH)₂-OH ($M_{Th}=1045.24$ g/mol).

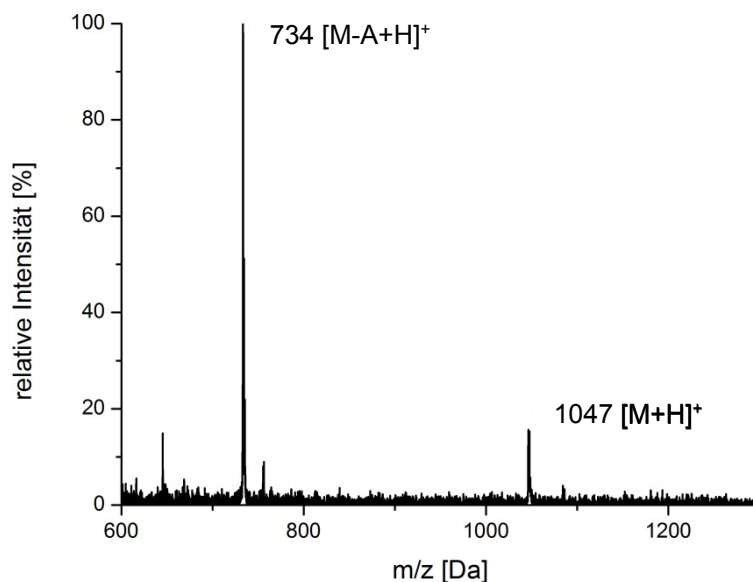


Abbildung 9.33. Maldi-TOF-MS des an MagSilica@NH₂-Nanopartikeln synthetisierten Trinucleotids A-A-A-O-(CH₂)₂-O-(CH)₂-OH ($M_{Th}=1045.24$ g/mol).

10. Literaturverzeichnis

- [1] R. B. Merrifield, *J. Am. Chem. Soc.* **1963**, *85*, 2149-2154.
- [2] H. G. Börner, H. Schlaad, *Soft Matter* **2007**, *3*, 394-408.
- [3] L. Hartmann, E. Krause, M. Antonietti, H. G. Börner, *Biomacromolecules* **2006**, *7*, 1239-1244.
- [4] J. Hentschel, M. G. J. ten Cate, H. G. Börner, *Macromolecules* **2007**, *40*, 9224-9232.
- [5] J. C. M. Van Hest, *Polym. Rev.* **2007**, *47*, 63-92.
- [6] G. W. M. Vandermeulen, H.-A. Klok, *Macromol. Biosci.* **2004**, *4*, 383-398.
- [7] S. Zhang, *Nat. Biotechnol.* **2003**, *21*, 1171-1178.
- [8] A. Basso, P. Braiuca, C. Ebert, L. Gardossi, P. Linda, *J. Chem. Technol. Biotechnol.* **2006**, *81*, 1626-1640.
- [9] J. Mařík, D. H. Lau, A. Song, X. Wang, R. Liu, K. S. Lam, *J. Magn. Magn. Mater.* **2003**, *264*, 153-157.
- [10] S. Rana, P. White, M. Bradley, *Tetrahedron Lett.* **1999**, *40*, 8137-8140.
- [11] P. Sasikumar, M. Kempe, *Int. J. Pept. Res. Ther.* **2007**, *13*, 129-141.
- [12] I. Sucholeiki, J. M. Perez, *Tetrahedron Lett.* **1999**, *40*, 3531-3534.
- [13] M. J. Szymonifka, K. T. Chapman, *Tetrahedron Lett.* **1995**, *36*, 1597-1600.
- [14] G. B. Fields, R. L. Noble, *Int. J. Pept. Protein Res.* **1990**, *35*, 161-214.
- [15] G. Jung, A. G. Becksickinger, *Angew. Chem., Int. Ed.* **1992**, *31*, 367-383.
- [16] R. B. Merrifield, *Angew. Chem., Int. Ed.* **1985**, *24*, 799-810.
- [17] M. R. Pavia, T. K. Sawyer, W. H. Moos, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **1993**, *3*, 387-396.
- [18] H.-D. Jakubke, *Peptide: Chemie und Biologie*, Spektrum, Akad. Verl., Heidelberg, **1996**.
- [19] S. L. Beaucage, R. P. Iyer, *Tetrahedron* **1992**, *48*, 2223-2311.
- [20] F. X. Montserrat, A. Grandas, R. Eritja, E. Pedroso, *Tetrahedron* **1994**, *50*, 2617-2622.
- [21] R. Epton, *Innovation and Perspectives in Solid Phase Synthesis*, Intercept, Andover, **1992**.
- [22] S. J. Danishefsky, K. F. McClure, J. T. Randolph, R. B. Ruggeri, *Science* **1993**, *260*, 1307-1309.
- [23] S. P. Douglas, D. M. Whitfield, J. J. Krepinsky, *J. Am. Chem. Soc.* **1991**, *113*, 5095-5097.
- [24] M. Schuster, P. Wang, J. C. Paulson, C. H. Wong, *J. Am. Chem. Soc.* **1994**, *116*, 1135-1136.
- [25] R. Verduyn, P. A. M. Vanderklein, M. Douwes, G. A. Vandermarel, J. H. Vanboom, *Recl. Trav. Chim. Pays Bas* **1993**, *112*, 464-466.
- [26] R. N. Zuckermann, J. M. Kerr, M. A. Siani, S. C. Banville, *Int. J. Pept. Protein Res.* **1992**, *40*, 497-506.
- [27] E. Giralt, D. Andreu, *Peptides 1990, Proc. 21st Eur. Pept. Symp.*, ESCOM, Leiden, **1991**.
- [28] R. Frank, *Tetrahedron* **1992**, *48*, 9217-9232.

- [29] M. A. Gallop, R. W. Barrett, W. J. Dower, S. P. A. Fodor, E. M. Gordon, *J. Med. Chem.* **1994**, 37, 1233-1251.
- [30] R. A. Houghten, C. Pinilla, S. E. Blondelle, J. R. Appel, C. T. Dooley, J. H. Cuervo, *Nature* **1991**, 354, 84-86.
- [31] J. M. Ostresh, G. M. Husar, S. E. Blondelle, B. Dorner, P. A. Weber, R. A. Houghten, *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **1994**, 91, 11138-11142.
- [32] M. Stankova, S. Wade, K. S. Lam, M. Lebl, *Pept. Res.* **1994**, 7, 292-298.
- [33] J. S. Fruchtel, G. Jung, *Angew. Chem., Int. Ed.* **1996**, 35, 17-42.
- [34] L. Deogny, B. C. Pramanik, L. L. Arndt, J. D. Jones, J. Rush, C. A. Slaughter, J. D. Radolf, M. V. Norgard, *Pept. Res.* **1994**, 7, 91-97.
- [35] H. Paulsen, T. Bielfeldt, S. Peters, M. Meldal, K. Bock, *Liebigs Ann. Chem.* **1994**, 369-379.
- [36] Y. M. Angell, T. L. Thomas, G. R. Flentke, D. H. Rich, *J. Am. Chem. Soc.* **1995**, 117, 7279-7280.
- [37] B. Gutte, R. B. Merrifield, *J. Biol. Chem.* **1971**, 246, 1922-&.
- [38] A. Guyot, *Synthesis and Separations using Functional Polymers*, Wiley, Chichester, **1988**.
- [39] E. Atherton, M. Caviezel, H. Over, R. C. Sheppard, *J. Chem. Soc., Chem. Commun.* **1977**, 819-821.
- [40] E. Atherton, D. L. J. Clive, R. C. Sheppard, *J. Am. Chem. Soc.* **1975**, 97, 6584-6585.
- [41] E. Atherton, R. C. Sheppard, *Peptides 1974, Proc. 13th Eur. Pept. Symp.*, Halstedt, New York, **1975**.
- [42] R. Arshady, E. Atherton, M. J. Gait, K. Lee, R. C. Sheppard, *J. Chem. Soc., Chem. Commun.* **1979**, 423-425.
- [43] E. Atherton, D. Jarvis, G. P. Priestley, R. C. Sheppard, B. J. Williams, *Peptides: Structure and Function*, Pierce, Rockford, **1979**.
- [44] J. C. Alfred, J. L. Aubagnac, M. Calmes, J. Daunis, B. Elamrani, R. Jacquier, G. Nkusi, *Tetrahedron* **1988**, 44, 4407-4413.
- [45] B. Calas, J. Mery, J. Parello, A. Cave, *Tetrahedron* **1985**, 41, 5331-5339.
- [46] G. L. Stahl, R. Walter, C. W. Smith, *J. Am. Chem. Soc.* **1979**, 101, 5383-5394.
- [47] H. M. Geysen, R. H. Meloen, S. J. Barteling, *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.-Biol. Sci.* **1984**, 81, 3998-4002.
- [48] A. Dryland, R. C. Sheppard, *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1* **1986**, 125-137.
- [49] P. W. Small, D. C. Sherrington, *J. Chem. Soc., Chem. Commun.* **1989**, 1589-1591.
- [50] F. Albericio, M. Pons, E. Pedroso, E. Giralt, *J. Org. Chem.* **1989**, 54, 360-366.
- [51] K. Büttner, H. Zahn, W. H. Fischer, *Peptides: Chemistry and Biology*, ESCOM, Leiden, **1988**.
- [52] W. Rapp, K.-H. Wiesmüller, B. Fleckenstein, V. Gnau, G. Jung, *Peptides 1994, Proc. 23rd Eur. Pept. Symp.*, ESCOM, Leiden, **1995**.
- [53] E. Bayer, *Angew. Chem., Int. Ed.* **1991**, 30, 113-129.
- [54] E. Bayer, M. Dengler, B. Hemmasi, *Int. J. Pept. Protein Res.* **1985**, 25, 178-186.
- [55] E. Bayer, W. Rapp, *Chemistry of Peptides and Proteins*, de Gruyter, Berlin, **1986**.
- [56] J. M. Collins, K. A. Porter, S. K. Singh, G. S. Vanier, *Organic Letters* **2014**, 16, 940-943.

- [57] J. M. Collins, S. K. Singh, K. A. Porter, M. J. Karney, *Journal of Peptide Science* **2014**, 20, S51-S51.
- [58] K. A. Porter, S. K. Singh, J. M. Collins, *Journal of Peptide Science* **2014**, 20, S150-S151.
- [59] S. K. Singh, J. M. Collins, K. A. Porter, *Journal of Peptide Science* **2014**, 20, S150-S150.
- [60] D. Wellings, Spheritech Ltd; Spheritech Technology Co Ltd.
- [61] F. G. Martin, F. Albericio, *Chim. Oggi-Chem. Today* **2008**, 26, 29-34.
- [62] D. C. Sherrington, *Chem. Commun.* **1998**, 2275-2286.
- [63] H. Becker, H.-W. Lucas, J. Maul, V. N. R. Pillai, H. Anzinger, M. Mutter, *Makromol. Chem. Rapid Commun.* **1982**, 3, 217-223.
- [64] H. Hellermann, H. W. Lucas, J. Maul, V. N. R. Pillai, M. Mutter, *Makromol. Chem.* **1983**, 184, 2603-2617.
- [65] E. Bayer, B. Hemmasi, K. Albert, W. Rapp, M. Dengler, *Peptides: Structure and Function*, Pierce Chem. Comp., Rockford IL, USA, **1983**.
- [66] W. Rapp, *Combinatorial Peptide and Nonpeptide Libraries*, Wiley, Weinheim, **1996**.
- [67] F. Garcia-Martin, M. Quintanar-Audelo, Y. Garcia-Ramos, L. J. Cruz, C. Gravel, R. Furic, S. Cote, J. Tulla-Puche, F. Albericio, *J. Comb. Chem.* **2006**, 8, 213-220.
- [68] M. Meldal, *Tetrahedron Lett.* **1992**, 33, 3077-3080.
- [69] L. An-Hui, E. L. Salabas, F. Schüth, *Angew. Chem., Int. Ed.* **2007**, 46, 1222-1244.
- [70] A. H. Latham, M. E. Williams, *Acc. Chem. Res.* **2008**, 41, 411-420.
- [71] S. L. Beaucage, M. H. Caruthers, *Tetrahedron Lett.* **1981**, 22, 1859-1862.
- [72] J.-F. Lutz, H. G. Börner, *Prog. Polym. Sci.* **2008**, 33, 1-39.
- [73] D. S. Goodsell, *Bionanotechnology: Lessons from Nature*, Wiley, New Jersey, **2004**.
- [74] A. K. Shakya, H. Sami, A. Srivastava, A. Kumar, *Prog. Polym. Sci.* **2010**, 35, 459-486.
- [75] L. A. Canalle, D. W. P. M. Lowik, J. C. M. van Hest, *Chem. Soc. Rev.* **2010**, 39, 329-353.
- [76] S. Dehn, R. Chapman, K. A. Jolliffe, S. Perrier, *Polym. Rev.* **2011**, 51, 214-234.
- [77] S. S. van Berkel, A. T. J. Dirks, M. F. Debets, F. L. van Delft, J. J. L. M. Cornelissen, R. J. M. Nolte, F. P. J. T. Rutjes, *Chembiochem* **2007**, 8, 1504-1508.
- [78] C. S. Cazalis, C. A. Haller, L. Sease-Cargo, E. L. Chaikof, *Bioconjugate Chem.* **2004**, 15, 1005-1009.
- [79] M. Pechar, J. Brus, L. Kostka, C. Konak, M. Urbanova, M. Slouf, *Macromol. Biosci.* **2007**, 7, 56-69.
- [80] M. A. Gauthier, H.-A. Klok, *Chem. Commun.* **2008**, 2591-2611.
- [81] J. G. Moffatt, H. G. Khorana, *J. Am. Chem. Soc.* **1961**, 83, 649-658.
- [82] R. L. Letsinger, V. Mahadevan, *J. Am. Chem. Soc.* **1965**, 87, 3526-3527.
- [83] R. L. Letsinger, K. K. Ogilvie, *J. Am. Chem. Soc.* **1969**, 91, 3350-3355.
- [84] R. Feynman, in *American Physical Society Meeting, Vol. Sci. Eng. 23*, California Institute of Technology, **1960**, p. 22.
- [85] N. Taniguchi, in *Proc. Intl. Conf. Prod. Eng. Tokyo, Part II*, Japan Society of Precision Engineering, Tokyo, **1974**.
- [86] C. Raab, M. Simkó, U. Fiedeler, M. Nentwich, A. Gázsó, in *ITA Nanotrust Dossiers*, Eigenverlag/Self-published, Wien, **2008**.

- [87] H. C. van de Hulst, *Light Scattering by Small Particles*, Dover Publications, New York, **1981**.
- [88] N. R. Shiju, V. V. Gulians, *Appl. Catal., A* **2009**, 356, 1-17.
- [89] J. Thomas, R. Raja, *Top. Catal.* **2006**, 40, 3-17.
- [90] S. Abbet, U. Heiz, *Nanocatalysis in the Chemistry of Nanoparticles*, Wiley, Weinheim, **2004**.
- [91] A. Suzuki, *Modern Arene Chemistry*, Wiley, Weinheim, **2002**.
- [92] S. Bhattacharjee, D. M. Dotzauer, M. L. Bruening, *J. Am. Chem. Soc.* **2009**, 131, 3601-3610.
- [93] H. Goesmann, C. Feldmann, *Angew. Chem., Int. Ed.* **2010**, 49, 1362-1395.
- [94] T. Brockmann, P. Fontana, B. Meng, U. Müller, *Beton- und Stahlbetonbau* **2008**, 103, 446-454.
- [95] H. Althues, J. Henle, S. Kaskel, *Chem. Soc. Rev.* **2007**, 36, 1454-1465.
- [96] K. Bittler, W. Ostertag, *Angew. Chem., Int. Ed.* **1980**, 19, 190-196.
- [97] S. Schnittger, M. Sinha, S. C. Mehta, M. Misra, S. Mukherjee, A. J. O'Lenick, K. A. O'Lenick, P. Somasundaran, K. Subramanyan, K. P. Ananthapadmanabhan, J. C. Brahms, S. Chakraborty, P. G. Cummins, P. Maitra, L. D. Rhein, *MRS Bull.* **2007**, 32, 760-769.
- [98] P. P. Edwards, J. M. Thomas, *Angew. Chem., Int. Ed.* **2007**, 46, 5480-5486.
- [99] J. E. Millstone, S. J. Hurst, G. S. Metraux, J. I. Cutler, C. A. Mirkin, *Small* **2009**, 5, 646-664.
- [100] Q. Zhang, J. Ge, T. Pham, J. Goebel, Y. Hu, Z. Lu, Y. Yin, *Angew. Chem., Int. Ed.* **2009**, 48, 3516-3519.
- [101] J. F. Hainfeld, D. N. Slatkin, T. M. Focella, H. M. Smilowitz, *Brit. J. Radiol.* **2006**, 79, 248-253.
- [102] A. V. Akimov, A. Mukherjee, C. L. Yu, D. E. Chang, A. S. Zibrov, P. R. Hemmer, H. Park, M. D. Lukin, *Nature* **2007**, 450, 402-406.
- [103] Z. Li, T. Shegai, G. Haran, H. Xu, *ACS Nano* **2009**, 3, 637-642.
- [104] J. N. Anker, W. P. Hall, O. Lyandres, N. C. Shah, J. Zhao, R. P. Van Duyne, *Nat. Mater.* **2008**, 7, 442-453.
- [105] M. C. Daniel, D. Astruc, *Chem. Rev.* **2004**, 104, 293-346.
- [106] H. D. Hill, R. A. Vega, C. A. Mirkin, *Anal. Chem.* **2007**, 79, 9218-9223.
- [107] P. K. Jain, X. Huang, I. H. El-Sayed, M. A. El-Sayed, *Acc. Chem. Res.* **2008**, 41, 1578-1586.
- [108] N. L. Rosi, D. A. Giljohann, C. S. Thaxton, A. K. R. Lytton-Jean, M. S. Han, C. A. Mirkin, *Science* **2006**, 312, 1027-1030.
- [109] C. Feldmann, T. Justel, C. R. Ronda, P. J. Schmidt, *Adv. Funct. Mater.* **2003**, 13, 511-516.
- [110] H. A. Hoeppe, *Angew. Chem., Int. Ed.* **2009**, 48, 3572-3582.
- [111] C. W. E. van Eijk, *Phys. Med. Biol.* **2002**, 47, R85-R106.
- [112] J. M. Klostranec, W. C. W. Chan, *Adv. Mater.* **2006**, 18, 1953-1964.
- [113] X. Michalet, F. F. Pinaud, L. A. Bentolila, J. M. Tsay, S. Doose, J. J. Li, G. Sundaresan, A. M. Wu, S. S. Gambhir, S. Weiss, *Science* **2005**, 307, 538-544.
- [114] R. C. Somers, M. G. Bawendi, D. G. Nocera, *Chem. Soc. Rev.* **2007**, 36, 579-591.
- [115] G. M. Whitesides, *Nat. Biotechnol.* **2003**, 21, 1161-1165.

- [116] Y. Xia, *Nat. Mater.* **2008**, 7, 758-760.
- [117] H. Zhang, D. Yee, C. Wang, *Nanomedicine* **2008**, 3, 83-91.
- [118] R. Dronskowski, *Adv. Funct. Mater.* **2001**, 11, 27-29.
- [119] H. Hibst, *Angew. Chem., Int. Ed.* **1982**, 21, 270-282.
- [120] E. Riedel, C. Janiak, *Anorganische Chemie, 7. Auflage*, de Gruyter, Berlin, **2007**.
- [121] N. Wiberg, *Lehrbuch der Anorganischen Chemie*, **2008**.
- [122] A. Claudia, in *Inorganic Nanoparticles*, CRC Press, **2010**, pp. 313-342.
- [123] Gittlema.Ji, B. Abeles, S. Bozowski, *Physical Review B* **1974**, 9, 3891-3897.
- [124] J. Dobson, *Nat. Nanotechnol.* **2008**, 3, 139-143.
- [125] S. S. Papell, *Vol. United States Patent 3215572* **1965**.
- [126] S. Odenbach, *J. Phys.: Condens. Matter* **2004**, 16, R1135-R1150.
- [127] C. Feldmann, *Solid State Sci.* **2005**, 7, 868-873.
- [128] A. Fu, W. Hu, L. Xu, R. J. Wilson, H. Yu, S. J. Osterfeld, S. S. Gambhir, S. X. Wang, *Angew. Chem., Int. Ed.* **2009**, 48, 1620-1624.
- [129] S. Giri, B. G. Trewyn, M. P. Stellmaker, V. S. Y. Lin, *Angew. Chem., Int. Ed.* **2005**, 44, 5038-5044.
- [130] C. Wang, J. Chen, T. Talavage, J. Irudayaraj, *Angew. Chem., Int. Ed.* **2009**, 48, 2759-2763.
- [131] C. T. Yavuz, J. T. Mayo, W. W. Yu, A. Prakash, J. C. Falkner, S. Yean, L. Cong, H. J. Shipley, A. Kan, M. Tomson, D. Natelson, V. L. Colvin, *Science* **2006**, 314, 964-967.
- [132] I. Safarik, M. Safarikova, *Monatsh. Chem.* **2002**, 133, 737-759.
- [133] C. J. Xu, K. M. Xu, H. W. Gu, R. K. Zheng, H. Liu, X. X. Zhang, Z. H. Guo, B. Xu, *J. Am. Chem. Soc.* **2004**, 126, 9938-9939.
- [134] Y.-W. Jun, J.-H. Lee, J. Cheon, *Angew. Chem., Int. Ed.* **2008**, 47, 5122-5135.
- [135] H. B. Na, I. C. Song, T. Hyeon, *Adv. Mater.* **2009**, 21, 2133-2148.
- [136] J. R. McCarthy, K. A. Kelly, E. Y. Sun, R. Weissleder, *Nanomedicine* **2007**, 2, 153-167.
- [137] R. Weissleder, A. Moore, U. Mahmood, R. Bhorade, H. Benveniste, E. A. Chiocca, J. P. Bacion, *Nat. med.* **2000**, 6, 351-355.
- [138] M. Zhao, D. A. Beauregard, L. Loizou, B. Davletov, K. M. Brindle, *Nat. med.* **2001**, 7, 1241-1244.
- [139] F. Hu, L. Wei, Z. Zhou, Y. Ran, Z. Li, M. Gao, *Adv. Mater.* **2006**, 18, 2553-+.
- [140] J.-H. Lee, Y.-M. Huh, Y.-w. Jun, J.-w. Seo, J.-t. Jang, H.-T. Song, S. Kim, E.-J. Cho, H.-G. Yoon, J.-S. Suh, J. Cheon, *Nat. med.* **2007**, 13, 95-99.
- [141] D. Vernimmen, M. Gueders, S. Pisvin, P. Delvenne, R. Winkler, *Br. J. Cancer* **2003**, 89, 899-906.
- [142] J. Kim, J. E. Lee, J. Lee, Y. Jang, S.-W. Kim, K. A. an, H. H. Yu, T. Hyeon, *Angew. Chem., Int. Ed.* **2006**, 45, 4789-4793.
- [143] N. Nasongkla, E. Bey, J. Ren, H. Ai, C. Khemtong, J. S. Guthi, S.-F. Chin, A. D. Sherry, D. A. Boothman, J. Gao, *Nano Lett.* **2006**, 6, 2427-2430.
- [144] O. T. Bruns, H. Ittrich, K. Peldschus, M. G. Kaul, U. I. Tromsdorf, J. Lauterwasser, M. S. Nikolic, B. Mollwitz, M. Merckel, N. C. Bigall, S. Sapra, R. Reimer, H. Hohenberg, H. Weller, A. Eychmueller, G. Adam, U. Beisiegel, J. Heeren, *Nat. Nanotechnol.* **2009**, 4, 193-201.

- [145] J.-t. Jang, H. Nah, J.-H. Lee, S. H. Moon, M. G. Kim, J. Cheon, *Angew. Chem., Int. Ed.* **2009**, *48*, 1234-1238.
- [146] H. B. Na, J. H. Lee, K. An, Y. I. Park, M. Park, I. S. Lee, D.-H. Nam, S. T. Kim, S.-H. Kim, S.-W. Kim, K.-H. Lim, K.-S. Kim, S.-O. Kim, T. Hyeon, *Angew. Chem., Int. Ed.* **2007**, *46*, 5397-5401.
- [147] W. S. Seo, J. H. Lee, X. Sun, Y. Suzuki, D. Mann, Z. Liu, M. Terashima, P. C. Yang, M. V. McConnell, D. G. Nishimura, H. Dai, *Nat. Mater.* **2006**, *5*, 971-976.
- [148] J.-L. Bridot, A.-C. Faure, S. Laurent, C. Riviere, C. Billotey, B. Hiba, M. Janier, V. Josserand, J.-L. Coll, L. Vander Elst, R. Muller, S. Roux, P. Perriat, O. Tillement, *J. Am. Chem. Soc.* **2007**, *129*, 5076-5084.
- [149] C.-C. Huang, C.-H. Su, W.-M. Li, T.-Y. Liu, J.-H. Chen, C.-S. Yeh, *Adv. Funct. Mater.* **2009**, *19*, 249-258.
- [150] M. Norek, E. Kampert, U. Zeitler, J. A. Peters, *J. Am. Chem. Soc.* **2008**, *130*, 5335-5340.
- [151] H. T. Jeng, G. Y. Guo, *Phys. Rev. B: Condens. Matter Mater. Phys.* **2002**, *65*.
- [152] R. G. Chaudhuri, S. Paria, *Chem. Rev.* **2012**, *112*, 2373-2433.
- [153] G. Cao, D. Liu, *Advances in Colloid and Interface Science* **2008**, *136*, 45-64.
- [154] H. Cao, G. Huang, S. Xuan, Q. Wu, F. Gu, C. Li, *Journal of Alloys and Compounds* **2008**, *448*, 272-276.
- [155] J. Cao, B. Xue, H. Li, D. Deng, Y. Gu, *Journal of Colloid and Interface Science* **2010**, *348*, 369-376.
- [156] A. M. Carmona-Ribeiro, *International Journal of Nanomedicine* **2010**, *5*, 249-259.
- [157] L. E. Euliss, S. G. Grancharov, S. O'Brien, T. J. Deming, G. D. Stucky, C. B. Murray, G. A. Held, *Nano Lett.* **2003**, *3*, 1489-1493.
- [158] R. Hong, N. O. Fischer, T. Emrick, V. M. Rotello, *Chem. Mater.* **2005**, *17*, 4617-4621.
- [159] M. Kim, Y. F. Chen, Y. C. Liu, X. G. Peng, *Adv. Mater.* **2005**, *17*, 1429-+.
- [160] X. Q. Liu, Y. P. Guan, Z. Y. Ma, H. Z. Liu, *Langmuir* **2004**, *20*, 10278-10282.
- [161] Y. Sahoo, H. Pizem, T. Fried, D. Golodnitsky, L. Burstein, C. N. Sukenik, G. Markovich, *Langmuir* **2001**, *17*, 7907-7911.
- [162] A. H. Lu, W. C. Li, N. Matoussevitch, B. Spliethoff, H. Bonnemann, F. Schuth, *Chem. Commun.* **2005**, 98-100.
- [163] N. S. Sobal, M. Hilgendorff, H. Mohwald, M. Giersig, M. Spasova, T. Radetic, M. Farle, *Nano Lett.* **2002**, *2*, 621-624.
- [164] J. Lin, W. L. Zhou, A. Kumbhar, J. Wiemann, J. Y. Fang, E. E. Carpenter, C. J. O'Connor, *J. Solid State Chem.* **2001**, *159*, 26-31.
- [165] Q. X. Liu, Z. H. Xu, J. A. Finch, R. Egerton, *Chem. Mater.* **1998**, *10*, 3936-3940.
- [166] Y. Kobayashi, M. Horie, M. Konno, B. Rodriguez-Gonzalez, L. M. Liz-Marzan, *J. Phys. Chem. B* **2003**, *107*, 7420-7425.
- [167] N. O. Nunez, P. Tartaj, M. P. Morales, P. Bonville, C. J. Serna, *Chem. Mater.* **2004**, *16*, 3119-3124.
- [168] D. K. Kim, M. Mikhaylova, Y. Zhang, M. Muhammed, *Chem. Mater.* **2003**, *15*, 1617-1627.
- [169] R. Massart, *IEEE Trans. Magn.* **1981**, *17*, 1247-1248.
- [170] M. Decuyper, M. Joniau, *Langmuir* **1991**, *7*, 647-652.
- [171] K. Raj, R. Moskowitz, *J. Magn. Magn. Mater.* **1990**, *85*, 233-245.

- [172] A. Wooding, M. Kilner, D. B. Lambrick, *J. Colloid Interface Sci.* **1992**, *149*, 98-104.
- [173] L. F. Shen, P. E. Laibinis, T. A. Hatton, *Langmuir* **1999**, *15*, 447-453.
- [174] M. H. Sousa, F. A. Tonrinho, J. Depeyrot, G. J. da Silva, M. Lara, *J. Phys. Chem. B* **2001**, *105*, 1168-1175.
- [175] R. M. Cornell, U. Schertmann, *The Iron Oxides: Structure, Properties, Reactions, Occurrence and Uses* Wiley, Weinheim, **1996**.
- [176] G. Barratt, *Cell. Mol. Life Sci.* **2003**, *60*, 21-37.
- [177] M. D. Butterworth, S. A. Bell, S. P. Armes, A. W. Simpson, *J. Colloid Interface Sci.* **1996**, *183*, 91-99.
- [178] P. Tartaj, M. P. Morales, T. Gonzalez-Carreno, S. Veintemillas-Verdaguer, C. J. Serna, *J. Magn. Magn. Mater.* **2005**, *290*, 28-34.
- [179] M. X. Wan, J. C. Li, *J. Polym. Sci., Part A: Polym. Chem.* **1998**, *36*, 2799-2805.
- [180] A. Gutsch, J. Averdung, H. Muhlenweg, *Chem. Ing. Tech.* **2005**, *77*, 1377-1392.
- [181] C. Janzen, P. Roth, *Combust. Flame* **2001**, *125*, 1150-1161.
- [182] M. Kroell, M. Pridoehl, G. Zimmermann, L. Pop, S. Odenbach, A. Hartwig, *J. Magn. Magn. Mater.* **2005**, *289*, 21-24.
- [183] M. Vogel, *Physik Journal* **2006**, *5*, 16-17.
- [184] H. Wiggers, *Kona Powder and Part. J.* **2009**, 186-194.
- [185] F. Nador, M. A. Volpe, F. Alonso, A. Feldhoff, A. Kirschning, G. Radivoy, *Appl. Catal., A* **2013**, *455*, 39-45.
- [186] P. Ifeacho, T. Huelser, H. Wiggers, C. Schulz, P. Roth, *Proc. Combust. Inst.* **2007**, *31*, 1805-1812.
- [187] A. Rössler, G. Skillas, S. E. Pratsinis, *Chem. unserer Zeit* **2001**, *35*, 32-41.
- [188] S. E. Pratsinis, *Prog. Energy Combust. Sci.* **1998**, *24*, 197-219.
- [189] Y. Lee, J. Lee, C. J. Bae, J. G. Park, H. J. Noh, J. H. Park, T. Hyeon, *Adv. Funct. Mater.* **2005**, *15*, 503-509.
- [190] D. Vollath, *Nanomaterials*, Wiley, Weinheim, **2008**.
- [191] D. L. Ma, J. W. Guan, F. Normandin, S. Denommee, G. Enright, T. Veres, B. Simard, *Chem. Mater.* **2006**, *18*, 1920-1927.
- [192] C. Graf, D. L. J. Vossen, A. Imhof, A. van Blaaderen, *Langmuir* **2003**, *19*, 6693-6700.
- [193] Y. Lu, Y. D. Yin, B. T. Mayers, Y. N. Xia, *Nano Lett.* **2002**, *2*, 183-186.
- [194] A. P. Philipse, M. P. B. Vanbruggen, C. Pathmamanoharan, *Langmuir* **1994**, *10*, 92-99.
- [195] W. Stöber, A. Fink, E. Bohn, *J. Colloid Interface Sci* **1968**, *26*, 62-69.
- [196] T. Tago, T. Hatsuta, K. Miyajima, M. Kishida, S. Tashiro, K. Wakabayashi, *J. Am. Ceram. Soc.* **2002**, *85*, 2188-2194.
- [197] J. C. Park, D. A. Gilbert, K. Liu, A. Y. Louie, *J. Mater. Chem.* **2012**, *22*, 8449-8454.
- [198] A. Ulman, *Chem. Rev.* **1996**, *96*, 1533-1554.
- [199] V. Salgueirino-Maceira, M. A. Correa-Duarte, M. Farle, A. Lopez-Quintela, K. Sieradzki, R. Diaz, *Chem. Mater.* **2006**, *18*, 2701-2706.
- [200] R. Gedye, F. Smith, K. Westaway, H. Ali, L. Baldisera, L. Laberge, J. Rousell, *Tetrahedron Lett.* **1986**, *27*, 279-282.
- [201] R. J. Giguere, T. L. Bray, S. M. Duncan, G. Majetich, *Tetrahedron Lett.* **1986**, *27*, 4945-4948.

- [202] D. Adam, *Nature* **2003**, 421, 571-572.
- [203] R. A. Abramovitch, *Org. Prep. Proced. Int.* **1991**, 23, 685-711.
- [204] S. Caddick, *Tetrahedron* **1995**, 51, 10403-10432.
- [205] A. de la Hoz, A. Diaz-Ortiz, A. Moreno, F. Langa, *Eur. J. Org. Chem.* **2000**, 3659-3673.
- [206] P. Lidstrom, J. Tierney, B. Wathey, J. Westman, *Tetrahedron* **2001**, 57, 9225-9283.
- [207] C. R. Strauss, *Aust. J. Chem.* **1999**, 52, 83-96.
- [208] C. R. Strauss, R. W. Trainor, *Aust. J. Chem.* **1995**, 48, 1665-1692.
- [209] Y. Xu, Q. X. Guo, *Heterocycles* **2004**, 63, 903-974.
- [210] C. O. Kappe, *Angew. Chem., Int. Ed.* **2004**, 43, 6250-6284.
- [211] J.-S. Schanche, *Mol. Diversity* **2003**, 7, 293-300.
- [212] A. de la Hoz, A. Diaz-Ortiz, A. Moreno, *Chem. Soc. Rev.* **2005**, 34, 164-178.
- [213] A. De La Hoz, A. Diaz-Ortiz, A. Moreno, *Microwaves in Organic Synthesis*, 2. Aufl, Wiley, Weinheim, **2006**.
- [214] C. O. Kappe, B. Pieber, D. Dallinger, *Angew. Chem., Int. Ed.* **2013**, 52, 1088-1094.
- [215] C. O. Kappe, A. Stadler, D. Dallinger, *Microwaves in Organic and Medicinal Chemistry*, Wiley, Weinheim, **2012**.
- [216] L. Perreux, A. Loupy, *Tetrahedron* **2001**, 57, 9199-9223.
- [217] L. Perreux, A. Loupy, *Microwaves in Organic Synthesis*, 2. Aufl, Wiley, Weinheim, **2006**.
- [218] L. Perreux, A. Loupy, A. Petit, *Microwaves in Organic Synthesis*, 3. Aufl, Wiley, Weinheim, **2013**.
- [219] C. O. Kappe, *Chem. Soc. Rev.* **2008**, 37, 1127-1139.
- [220] C. R. Strauss, *Org. Process Res. Dev.* **2009**, 13, 915-923.
- [221] C. R. Strauss, D. W. Rooney, *Green Chem.* **2010**, 12, 1340-1344.
- [222] D. R. Baghurst, D. M. P. Mingos, *J. Chem. Soc., Chem. Commun.* **1992**, 674-677.
- [223] W. Chen, B. Gutmann, C. O. Kappe, *ChemistryOpen* **2012**, 1, 39-48.
- [224] C. Gabriel, S. Gabriel, E. H. Grant, B. S. J. Halstead, D. M. P. Mingos, *Chem. Soc. Rev.* **1998**, 27, 213-223.
- [225] S. Garbacia, B. Desai, O. Lavastre, C. O. Kappe, *J. Org. Chem.* **2003**, 68, 9136-9139.
- [226] B. Gutmann, A. M. Schwan, B. Reichart, C. Gspan, F. Hofer, C. O. Kappe, *Angew. Chem., Int. Ed.* **2011**, 50, 7636-7640.
- [227] A. Stadler, C. O. Kappe, *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 2* **2000**, 1363-1368.
- [228] A. Stadler, C. O. Kappe, *Eur. J. Org. Chem.* **2001**, 2001, 919-925.
- [229] A. M. Rodriguez, C. Cebrian, P. Prieto, J. Ignacio Garcia, A. de la Hoz, A. Diaz-Ortiz, *Chem. Eur. J.* **2012**, 18, 6217-6224.
- [230] A. M. Rodriguez, P. Prieto, A. de la Hoz, A. Diaz-Ortiz, *Org. Biomol. Chem.* **2011**, 9, 2371-2377.
- [231] G. S. Getvoldsen, N. Elander, S. A. Stone-Elander, *Chem.-Eur. J.* **2002**, 8, 2255-2260.
- [232] D. E. Pivonka, J. R. Empfield, *Appl. Spectrosc.* **2004**, 58, 41-46.
- [233] A. Stadler, C. O. Kappe, in *Microwave Assisted Organic Synthesis*, Blackwell Publishing Ltd., **2009**, pp. 177-221.

- [234] R. E. Austin, J. F. Okonya, D. R. S. Bond, F. Al-Obeidi, *Tetrahedron Lett.* **2002**, 43, 6169-6171.
- [235] F. Al-Obeidi, R. E. Austin, J. F. Okonya, D. R. S. Bond, *Mini-Rev. Med. Chem.* **2003**, 3, 449-460.
- [236] M. Baghbanzadeh, L. Carbone, P. D. Cozzoli, C. O. Kappe, *Angew. Chem., Int. Ed.* **2011**, 50, 11312-11359.
- [237] M. Niederberger, N. Pinna, *Metal Oxide Nanoparticles in Organic Solvents - Synthesis, Formation, Assembly and Application*, Springer, London, **2009**.
- [238] R. Buonsanti, M. Casavola, G. Caputo, P. D. Cozzoli, *Recent Pat. Nanotechnol.* **2007**, 1, 224-232.
- [239] M. Casavola, R. Buonsanti, G. Caputo, P. D. Cozzoli, *Eur. J. Inorg. Chem.* **2008**, 837-854.
- [240] P. D. Cozzoli, T. Pellegrino, L. Manna, *Chem. Soc. Rev.* **2006**, 35, 1195-1208.
- [241] M. Niederberger, *Acc. Chem. Res.* **2007**, 40, 793-800.
- [242] N. Pinna, M. Niederberger, *Angew. Chem., Int. Ed.* **2008**, 47, 5292-5304.
- [243] Y. Xia, Y. Xiong, B. Lim, S. E. Skrabalak, *Angew. Chem., Int. Ed.* **2009**, 48, 60-103.
- [244] I. Bilecka, M. Niederberger, *Chimia* **2009**, 63, 581-581.
- [245] I. Bilecka, M. Niederberger, *Nanoscale* **2010**, 2, 1358-1374.
- [246] I. Bilecka, I. Djerdj, M. Niederberger, *Chem. Commun.* **2008**, 886-888.
- [247] M. Niederberger, G. Garnweitner, *Chem.-Eur. J.* **2006**, 12, 7282-7302.
- [248] I. Bilecka, P. Elser, M. Niederberger, *ACS Nano* **2009**, 3, 467-477.
- [249] W. C. Chan, P. D. White, *Fmoc Solid-Phase Peptide Synthesis*, Oxford University Press, Oxford, **2000**.
- [250] Z. Li, H. Chen, H. B. Bao, M. Y. Gao, *Chem. Mater.* **2004**, 16, 1391-1393.
- [251] C. A. Schneider, W. S. Rasband, K. W. Eliceiri, *Nature Methods* **2012**, 9, 671-675.
- [252] N. Pinna, S. Grancharov, P. Beato, P. Bonville, M. Antonietti, M. Niederberger, *Chem. Mater.* **2005**, 17, 3044-3049.
- [253] Malvern_Instruments_GmbH, *Malvern Shortcourse - Zetapotential*.
- [254] S. Laurent, D. Forge, M. Port, A. Roch, C. Robic, L. V. Elst, R. N. Muller, *Chem. Rev.* **2008**, 108, 2064-2110.
- [255] M. Erdemoglu, M. Sarikaya, *Journal of Colloid and Interface Science* **2006**, 300, 795-804.
- [256] C. Graf, S. Dembski, A. Hofmann, E. Ruhl, *Langmuir* **2006**, 22, 5604-5610.
- [257] Q. Ye, F. Zhou, W. M. Liu, *Chemical Society Reviews* **2011**, 40, 4244-4258.
- [258] N. Enomoto, T. Koyano, Z.-e. Nakagawa, *Ultrason. Sonochem.* **1996**, 3, S105-S109.
- [259] N. M. Bahadur, T. Furusawa, M. Sato, F. Kurayama, I. A. Siddiquey, N. Suzuki, *J. Colloid Interface Sci* **2010**, 355, 312-320.
- [260] X. Liu, J. Xing, Y. Guan, G. Shan, H. Liu, *Colloids Surf., A* **2004**, 238, 127-131.
- [261] G. Orts-Gil, K. Natte, D. Drescher, H. Bresch, A. Manton, J. Kneipp, W. Österle, *J. Nanopart. Res.* **2010**, 1-12.
- [262] T. Sugimoto, *Adv. Colloid Interface Sci.* **1987**, 28, 65-108.
- [263] G. Beaucage, H. K. Kammler, S. E. Pratsinis, *Journal of Applied Crystallography* **2004**, 37, 523-535.
- [264] F. Gandor, Humboldt-Universität zu Berlin (Berlin), **2013**.

- [265] C. Stutz, I. Bilecka, A. F. Thunemann, M. Niederberger, H. G. Börner, *Chemical Communications* **2012**, 48, 7176-7178.
- [266] C. Stutz, I. Bilecka, A. F. Thunemann, M. Niederberger, H. G. Börner, *Chem. Commun.* **2012**, 48, 7176-7178.
- [267] H. Hug, Verlag Europa-Lehrmittel, Haan-Gruiten, **2011**.
- [268] F. Toepert, J. R. Pires, C. Landgraf, H. Oschkinat, J. Schneider-Mergener, *Angew. Chem., Int. Ed.* **2001**, 40, 897-900.
- [269] E. Kaiser, R. L. Colescott, C. D. Bossinger, P. I. Cook, *Anal. Biochem.* **1970**, 34, 595-598.
- [270] M. Amblard, J.-A. Fehrentz, J. Martinez, G. Subra, *Mol. Biotechnol.* **2006**, 33, 239-254.
- [271] P. Wilke, H. G. Börner, *ACS Macro Lett.* **2012**, 1, 871-875.
- [272] P. Bork, M. Sudol, *Trends Biochem. Sci* **1994**, 19, 531-533.
- [273] S. Marius, *Prog. Biophys. Mol. Biol.* **1996**, 65, 113-132.
- [274] C. Stutz, A. Meszynska, J.-F. Lutz, H. G. Börner, *ACS Macro Lett.* **2013**, 2, 641-644.
- [275] H. G. Börner, *Prog. Polym. Sci.* **2009**, 34, 811-851.
- [276] G. W. M. Vandermeulen, C. Tziatzios, H.-A. Klok, *Macromolecules* **2003**, 36, 4107-4114.
- [277] O. Glatter, O. Kratky, *Small angle x-ray scattering*, Academic Press, **1982**.
- [278] J. Ilavsky, P. R. Jemian, *Journal of Applied Crystallography* **2009**, 42, 347-353.
- [279] G. Beaucage, *Journal of Applied Crystallography* **1995**, 28, 717-728.
- [280] G. Beaucage, H. K. Kammler, R. Mueller, R. Strobel, N. Agashe, S. E. Pratsinis, T. Narayanan, *Nature Materials* **2004**, 3, 370-374.

11. Anhang

11.1. Abkürzungsverzeichnis

Aminosäuren und Nucleotide werden durch den Ein- oder Dreibuchstabencode abgekürzt.

Abb.	Abbildung
AFM	Rasterkraftspektroskopie
APTMS	(3-Aminopropyl)-trimethoxysilan
ber.	berechnet
BMT	5-Benzylmercapto-1H-tetrazol
Boc	<i>tert</i> -Butyloxycarbonyl
bzw.	beziehungsweise
CPG	Controlled Pore Glass
DCM	Dichlormethan
DIC	<i>N,N'</i> -Diisopropylcarbodiimid
DIPEA	Diisopropylethylamin
DLS	Dynamische Lichtstreuung
DMF	<i>N,N'</i> -Dimethylformamid
DMSO	Dimethylsulfoxid
DMT	Dimethoxytrityl
DNA	Desoxyribonukleinsäure
DVB	Divinylbenzol
EDX	Energiedispersive Röntgenspektroskopie
<i>et al.</i>	<i>et alli</i> (dt. und andere)
Fmoc	Fluorenylmethoxycarbonyl
FRET	Fluoreszenzenergietransfer
FT-IR	Fourier-Transformations-Infrarot-Spektroskopie
gef.	gefunden
HBTU	2-(1H-Benzotriazol-1-yl)-1,1,3,3-tertamethyluronium-hexafluorophosphat
IPDI	Isophorondiisocyanat

MagSilica®	Maghemit-Kristalle (Fe_2O_3), die isoliert voneinander in einer Silica-Matrix eingeschlossen sind (Evonik-Industries)
MALDI-ToF	matrix assisted laser desorption and ionization - time of flight
MS	Massenspektrometrie
NMP	N-Methyl-2-pyrrolidon
NMR	Kernspinresonanz
PEG	Polyethylenglycol
PEI	Polyethylenimin
PEO	Polyethylenoxid
PG	protecting group (dt. Schutzgruppe)
PMS	Partikelmassenspektrometer
PS	Polystyrol
PVP	Polyvinylpyrrolidon
PyBOP	Benzotriazol-1-yl-oxytripyrrolidino-phosphonium-hexafluoro-phosphat
SAXS	Kleinwinkel-Röntgenstreuung
SEM	Sekundärelektronenmikroskopie
SPPS	Festphasenpeptidsynthese
STEM	Rastertransmissionselektronenmikroskopie
TEM	Transmissionselektronenmikroskopie
TEOS	Tetraethoxysilan
TFA	Trifluoressigsäure
THF	Tetrahydrofuran
TMAH	Tetramethylammoniumhydroxid
u.a.	unter anderem
UPLC	ultra performance liquid chromatography
UV	Ultraviolett
WAXS	Weitwinkel-Röntgenstreuung
XRD	Röntgenbeugung
z.B.	zum Beispiel

Danksagung

Dank gebührt vielen Leuten, wenn gleich hier nicht alle Erwähnung finden können.

Ich danke ganz besonders Herrn Prof. Dr. Hans G. Börner für das wundervolle Thema, seine fortwährende Unterstützung, hochinteressante Diskussionen und den gewährten wissenschaftlichen Freiraum für die fachübergreifende Aufgabenstellung. Desweiteren möchte ich mich für die durch ihn gegebene Möglichkeit bedanken, dass ich meine ehrenamtlichen Tätigkeiten in der GDCh ohne Einschränkungen ausführen konnte.

Für die schnelle und konstruktive Durchsicht des Manuskripts möchte ich mich ganz herzlich bei Robert Fenger, Felix Gandor, Sebastian Wieczorek und Maria Tatzke bedanken.

Der gesamten Arbeitsgruppe Börner danke ich für die tolle Atmosphäre und Zusammenarbeit. Ganz besonderer Dank geht an Maria Meißler, Patrick Wilke, Thorsten Schwemmer und Sebastian Wieczorek, die während dieser Arbeit alle Hoch- und Tiefpunkte mit mir erlebten, mich toll unterstützten und zu engen Freunden wurden. Ein weiterer großer Dank geht an Felix Gandor, der mit tatkräftiger Unterstützung und tollen Ideen viele Projekte mit zum Erfolg führte. An dieser Stelle möchte ich mich auch ganz herzlich bei Katharina Linkert und Sabine Jacob für ihre Hilfe bei der Synthese von Peptiden und Partikeln bedanken. Weiterhin danke ich meinen Forschungspraktikanten Matthias Haasler, Franziska Fischer und Robert Wendt, welche in ihren jeweiligen Projekten tolle Eigeninitiativen und Ideen entwickelten.

Ein großer Dank gilt Prof. Markus Niederberger und seiner Arbeitsgruppe für die tolle Zusammenarbeit und die herzliche Aufnahme in Zürich. Besonderer Dank geht dabei an Dr. Idalia Bilecka für ihre wissenschaftliche Betreuung während des Forschungsaufenthaltes und die Einführung in die Mikrowellentechnik.

Weiterer großer Dank geht an die Arbeitsgruppe von Prof. Klaus Rademann, speziell an Robert Fenger, Christian Schaumberg und Robert Wendt für die Einweisung und Unterstützung bei SEM-, AFM- und Sedimentationsmessungen, für sehr konstruktive Gespräche und für eine tolle gemeinsame JCF-Zeit.

Des Weiteren möchte ich mich der Arbeitsgruppe von Prof. Oliver Seitz bedanken, für ihre Hilfsbereitschaft und für die Mitbenutzung der Geräte. Vor allem Josephine Schmalisch danke ich für die Hilfe bei der Analyse von Peptiden, sowie Felix Hövelmann für die Einführung in die Oligonucleotidsynthese.

Ein weiterer Dank geht an Arbeitsgruppe von Prof. Stefan Hecht für ihre Hilfsbereitschaft und für die Mitbenutzung der Glovebox und des FT-IR-Spektrometers.

Prof. Nicola Pinna, Gianvito Caputo, Dr. Anna Fischer, Dr. Cristina Giordano und Martin Süess danke ich ganz besonders für die wichtigen TEM-Aufnahmen. Für die WAXS-Messungen danke ich Dr. Johannes Schmidt, sowie für die BET Messungen Dr. Johannes Noack. Ein großer Dank geht auch an Prof. Klaus-Peter Möllmann und Detlef Karstädt für REM-Messungen. Ebenso danke ich Prof. Andreas Thünemann für die SAXS-Messungen und für deren Auswertung.

Vielen Dank auch an alle Freunde vom JungChemikerForum in ganz Deutschland für die wunderbare Zusammenarbeit an den vielen gemeinsamen Projekten und die tolle Zeit auf allen möglichen Veranstaltungen.

Danke auch an Kristina für ihre Unterstützung in meinem Leben, auch wenn sich unsere Wege mittlerweile getrennt haben.

Ein großer Dank geht an all meine tollen Freunde, die immer für mich da waren, immer ein offenes Ohr hatten und auch mal das ein oder andere Bier mit mir getrunken haben.

Mein größter Dank gilt meiner Familie, ganz besonders meiner Mutter Monika und Frank. Vielen Dank für Eure liebevolle und bedingungslose Unterstützung in allen Lebenslagen. Ohne Euch wäre ich nicht da, wo ich jetzt bin. Ein spezieller Dank geht noch an meine Mimi, weil Du immer für mich da bist und mich wieder ins Gleichgewicht gebracht hast.